Für die Vollständigkeit und Richtigkeit der einzelnen Inhalte der Vorlesung 61-026 „Einführung in die Pflanzenphysiologie“ kann keine Gewähr übernommen werden.

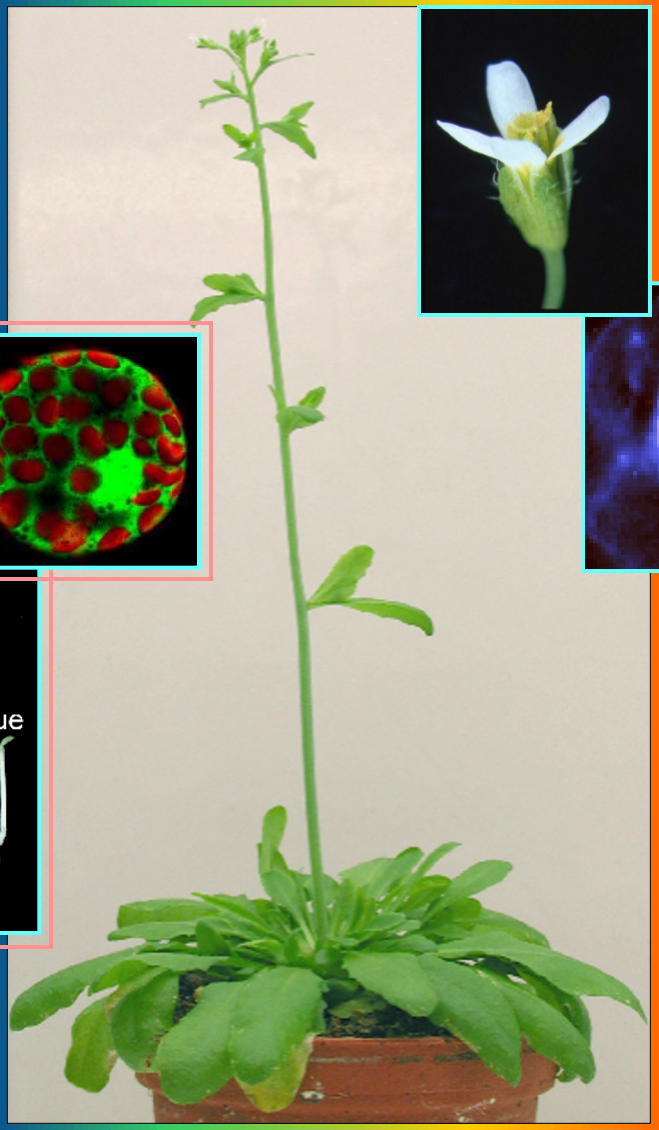
Es ist nicht gestattet, diese Vorlesung oder Teile dieser Vorlesung ohne ausdrückliche Genehmigung der Dozentinnen und Dozenten für die Wiedergabe im Druck, Vorträge oder eine andere Art der Veröffentlichung, auch nicht im Internet, zu verwenden. Für Teile der Abbildungen liegen die Rechte bei Buchverlagen, wissenschaftlichen Zeitschriften oder bei den Dozentinnen und Dozenten dieser Veranstaltung.

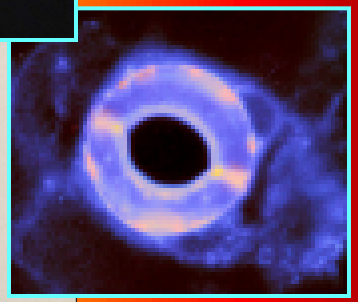
Hamburg, 23.1.2023 Prof. Stefan Hoth

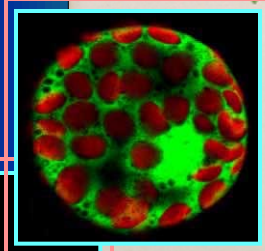
Geplanter Ablauf der Vorlesung

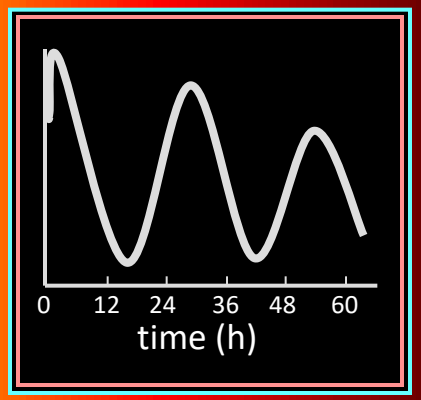
17. Oktober 2022	Wasserhaushalt
24. Oktober 2022	Mineralstoffernährung
7. November 2022	Mineralstoffernährung/ Bodenkunde
14. November 2022	Photosynthese
21. November 2022	Photosynthese
28. November 2022	Photosynthese
5. Dezember 2022	Photosynthese
12. Dezember 2022	Photosynthese
19. Dezember 2022	Pflanzenhormone
9. Januar 2023	Pflanzenhormone
16. Januar 2023	Pflanzenhormone
23. Januar 2023	Licht als Entwicklungsstimulus
30. Januar 2023	Licht als Entwicklungsstimulus

Lichtabhängige Prozesse in Pflanzen



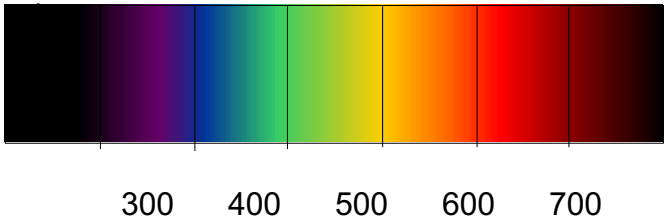






Signaltransduktion

Stimulus

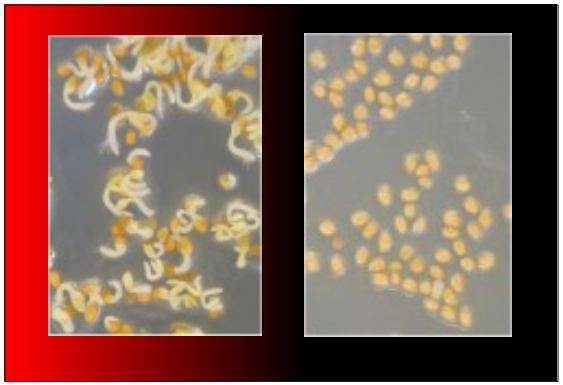


↓

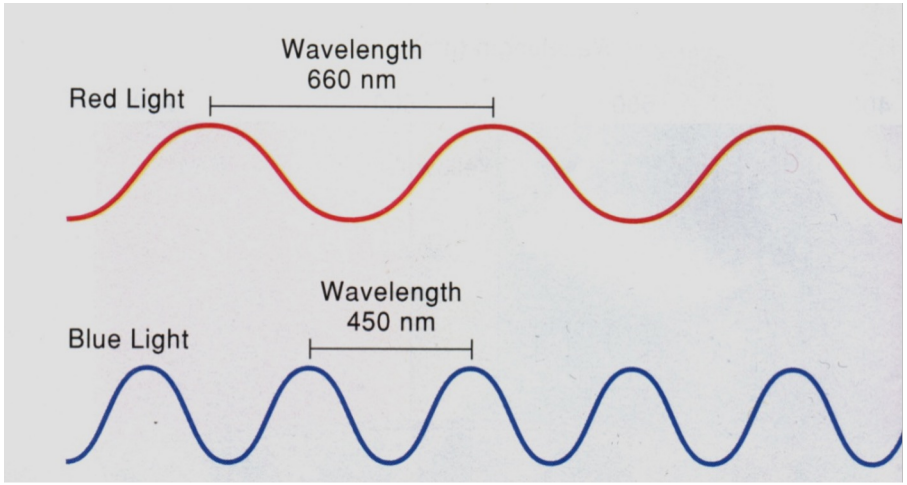
Signalerkennung
und
Signalweiterleitung

↓

Antwort der Zelle bzw. der Pflanze



Licht als Stimulus

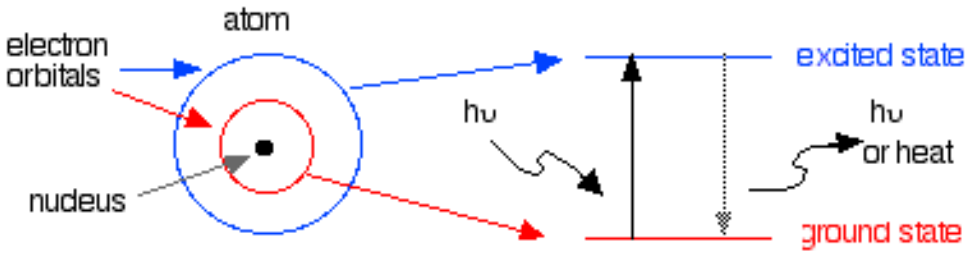


Lichtqualität und -quantität

400 500 600 700

$E = h*c/\lambda$

$h = 6{,}626 * 10^{-34}\ J * s$
$c = 3 * 10^{8}\ m * s^{-1}$



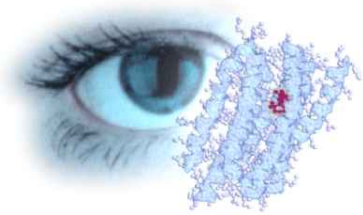
$\Rightarrow$ 1 Photon bei 450 nm: $4{,}4 * 10^{-19}$ J
1 Mol Photonen bei 450 nm: $2{,}7 * 10^{5}$ J

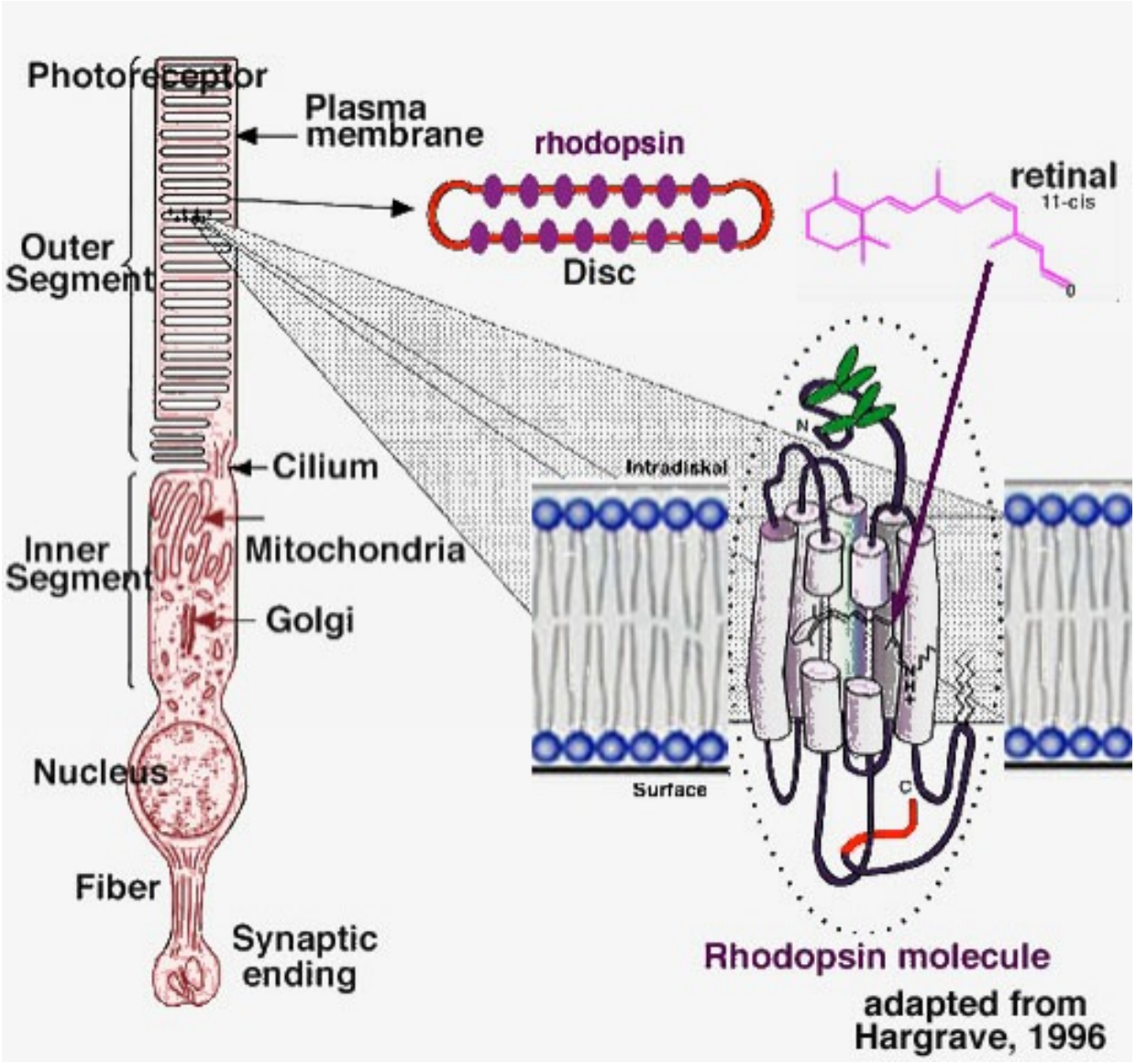
Fluss = Mol / Fläche ($\mu mol * m^{-2}$)
Flussrate = Mol / Fläche / Zeit ($\mu mol * m^{-2} * s^{-1}$)

1 J = $3{,}76 * 10^{-6}$ Mol Photonen (450 nm)

$3\ W * m^{-2} = 3\ J * m^{-2} * s^{-1} = 11{,}28\ \mu mol * m^{-2} * s^{-1}$

Rhodopsin als klassisches Beispiel eines G-Protein gekoppelten Rezeptors

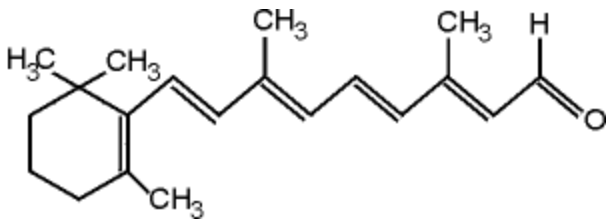


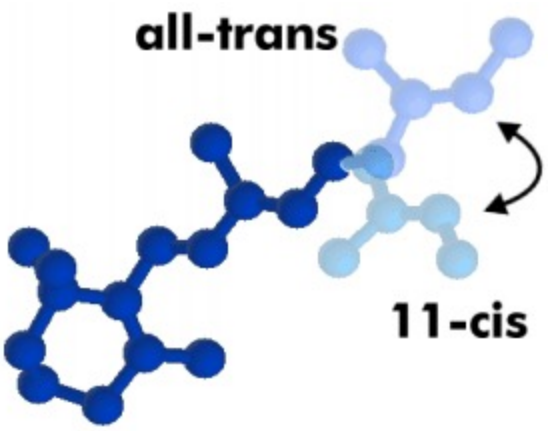


Stäbchen

Chromophor des Rhodopsins: Retinal

Derivat des Vitamin A

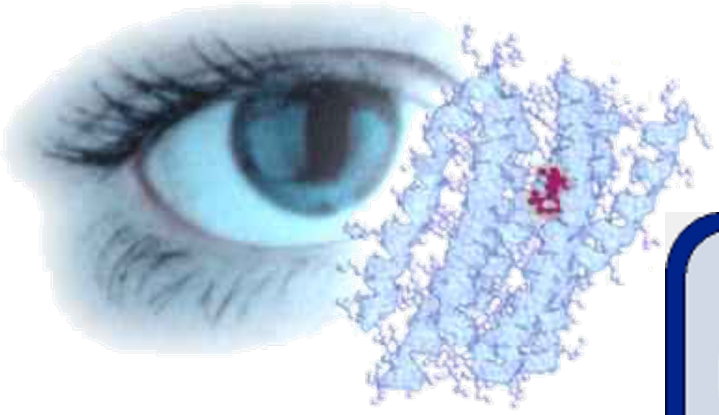


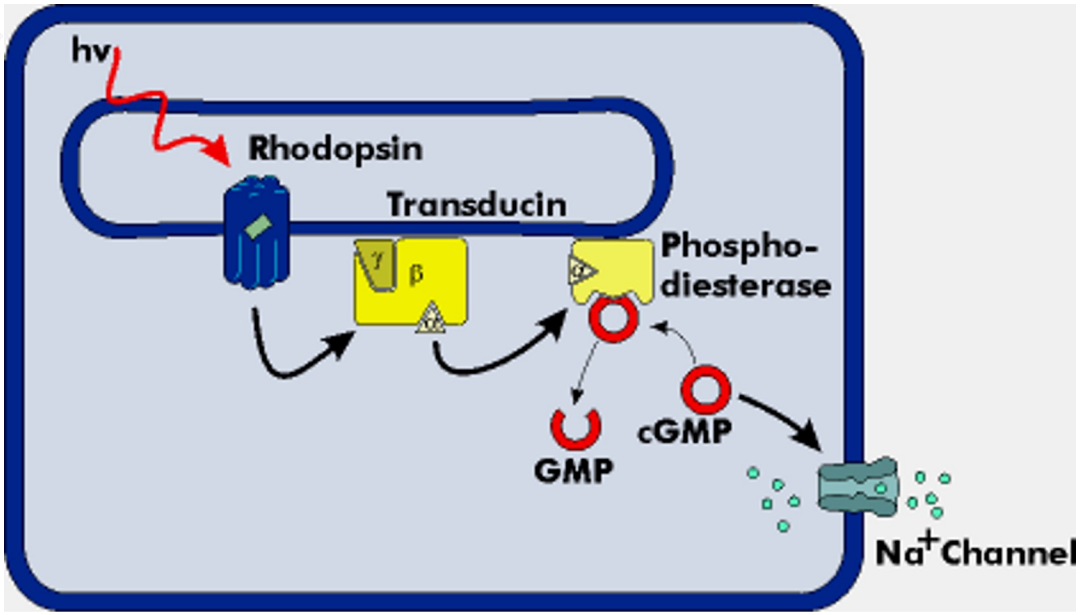


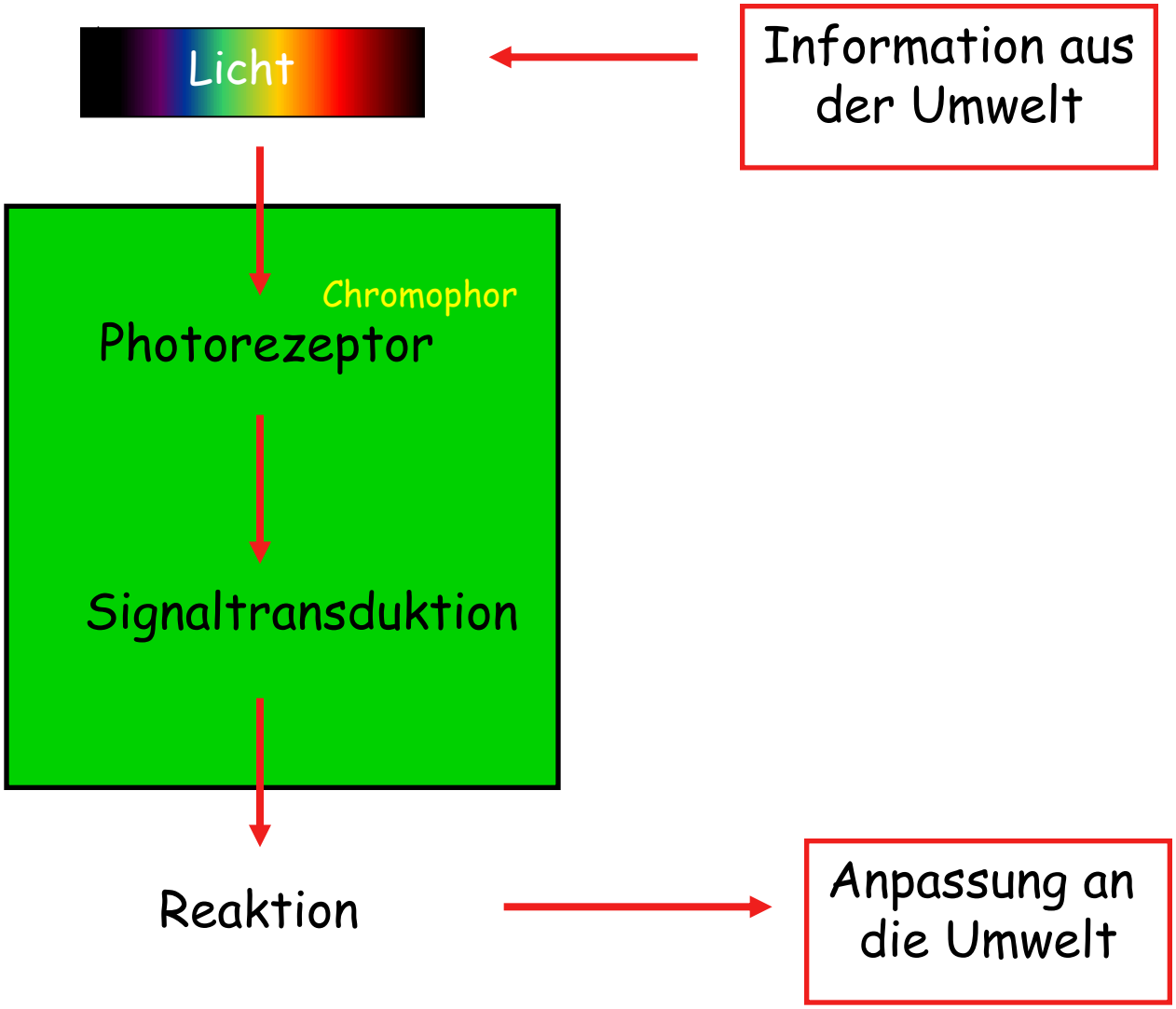
Licht

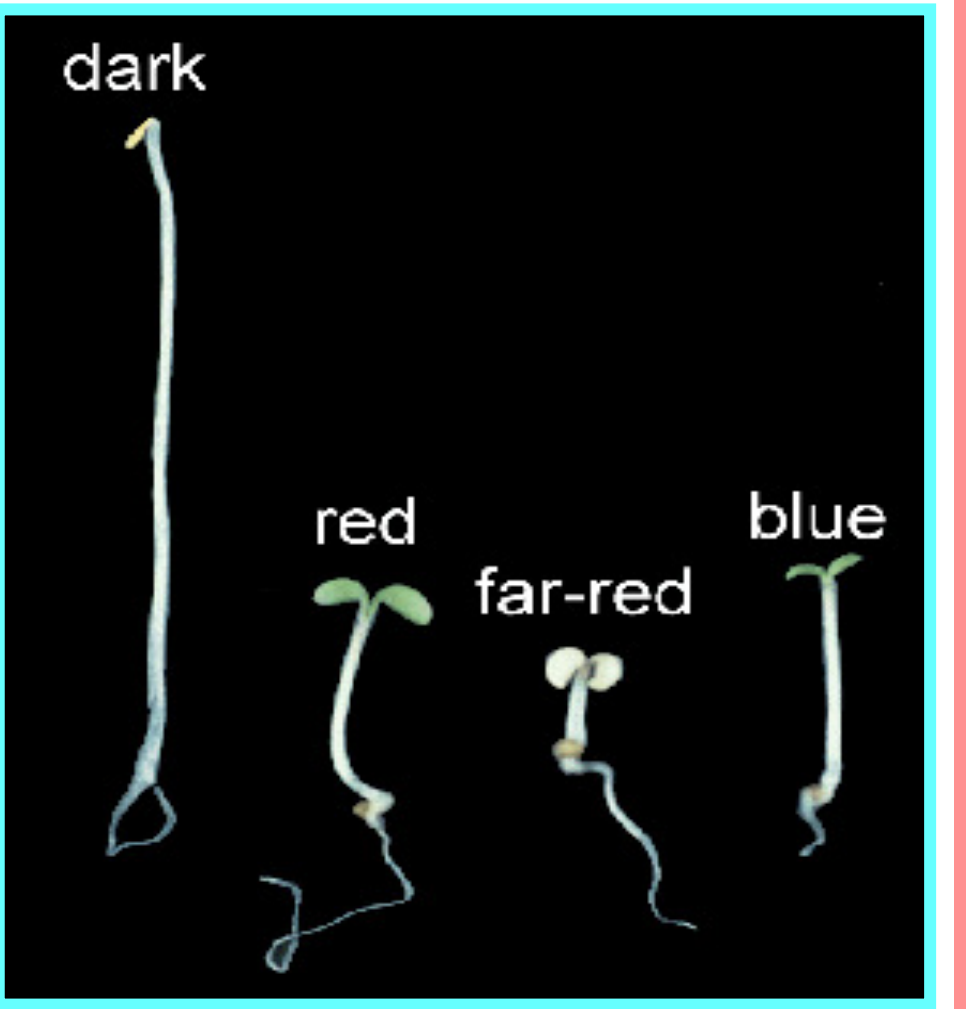
Dunkel

Sehen/ Licht-Signaltransduktion






Licht
Information aus der Umwelt
Chromophor
Photorezeptor
Signaltransduktion
Reaktion
Anpassung an die Umwelt



Photomorphogenese

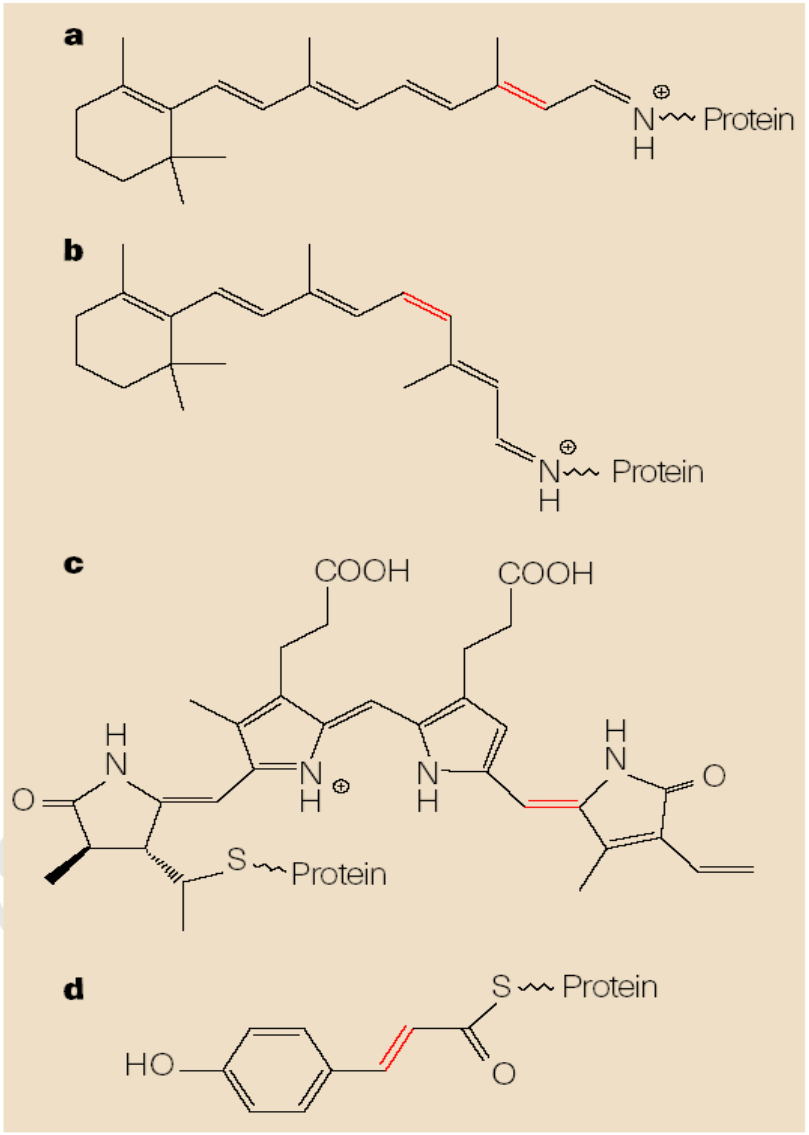
- kurzes Hypokotyl
- geöffneter Apikalhaken
- expandierte Kotelydonen
- differenziertes Blatt
- funktionsfähige Chloroplasten
- Differenzierung von Xylem

Skotomorphogenese

Einteilung von Photorezeptoren

Absorbierte Wellenlänge		Rezeptor
UV-B (282-320 nm)	→	UVR8 (Trp-Reste)
UV-A/ Blau (320-500 nm)	→	Cryptochrome
	→	Phototropine/ PYP-Familie
	→	PAC/AppA-Familie
Hellrot/Dunkelrot (600-750 nm)	→	Phytochrome
variabel (grün)	→	diverse Rhodopsine

1. Isomerisierung an einer Doppelbindung



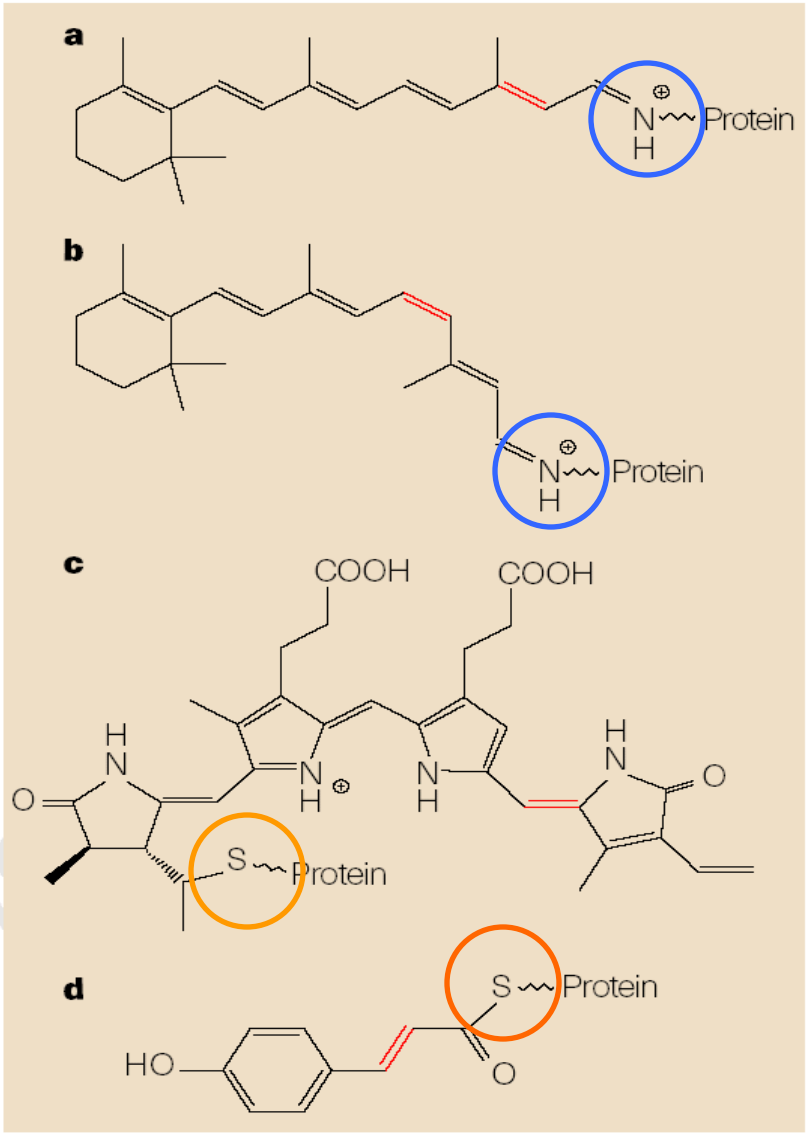
All-Trans-Retinal
(Bakteriorhodopsine, Chlamyopsin)

11-Cis-Retinal
(tierische Opsine)

Phytochromobilin + Biliverdine
(Phytochrome, Bakteriophytochrome)

p-Cumarsäure
(PYP Photoactive Yellow Protein der Eubakterien)

Kovalent Bindung an Photorezeptorproteine

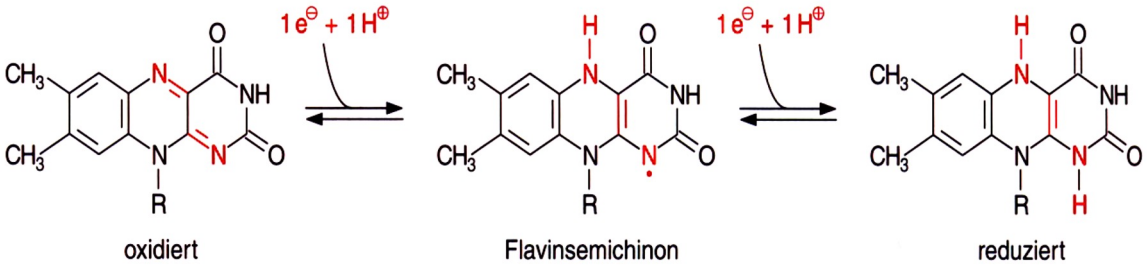


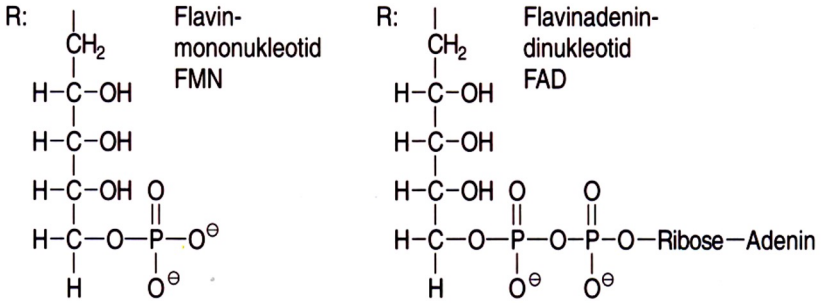
Schiff'sche Base an Lysin

Thioether oder Thioester an Cystein

2. Abgabe von Elektronen

Cryptochrome, Phototropine





FMN FAD

600 nm

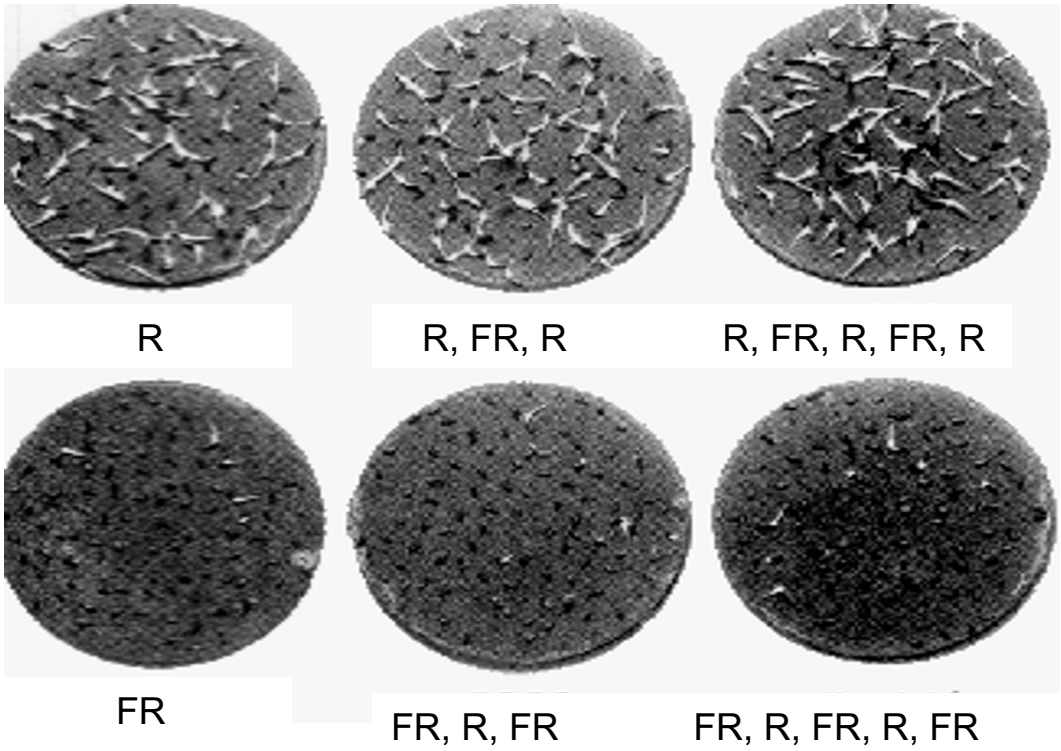
750 nm

Rotlichtrezeption

Phytochrom

- reversibles Rot-Dunkelrot-System
  (kann auch blaues Licht absorbieren)

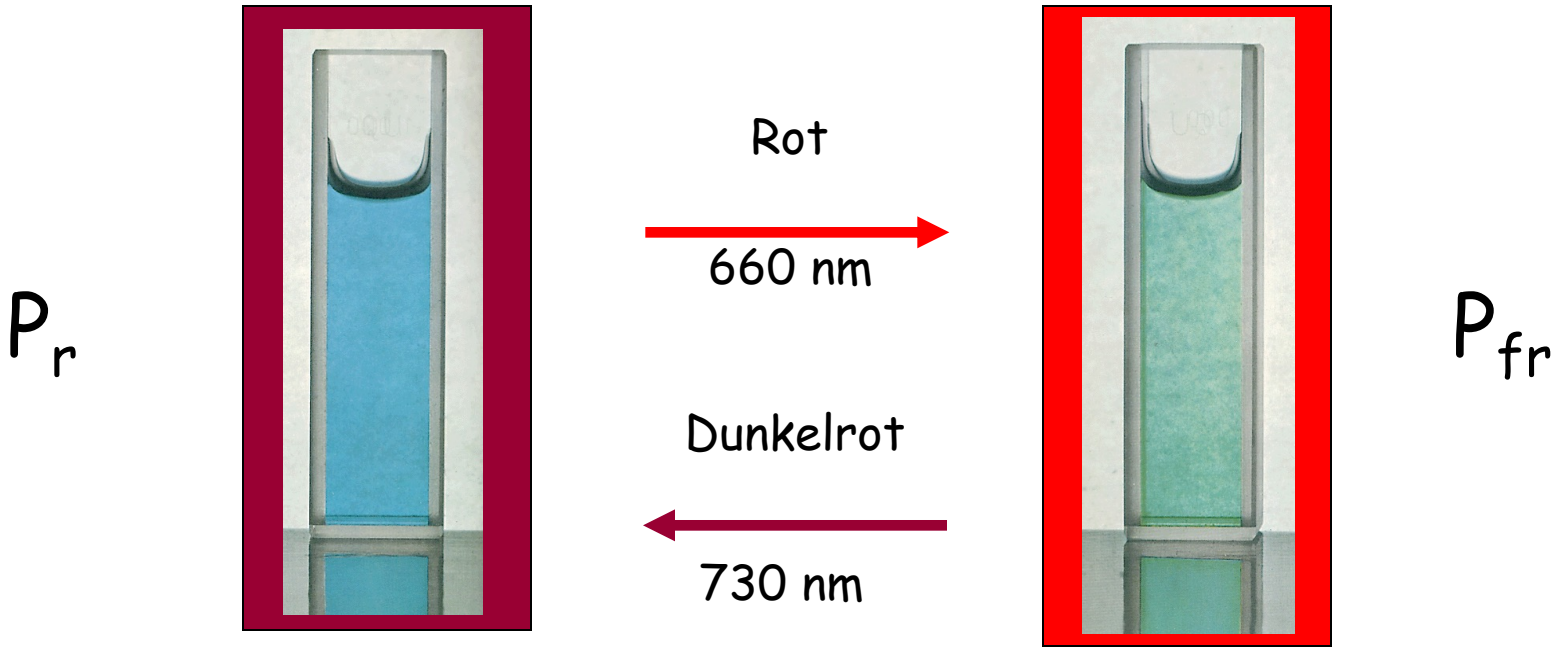
- Rotlichteffekt kann durch Dunkelrot umgekehrt werden



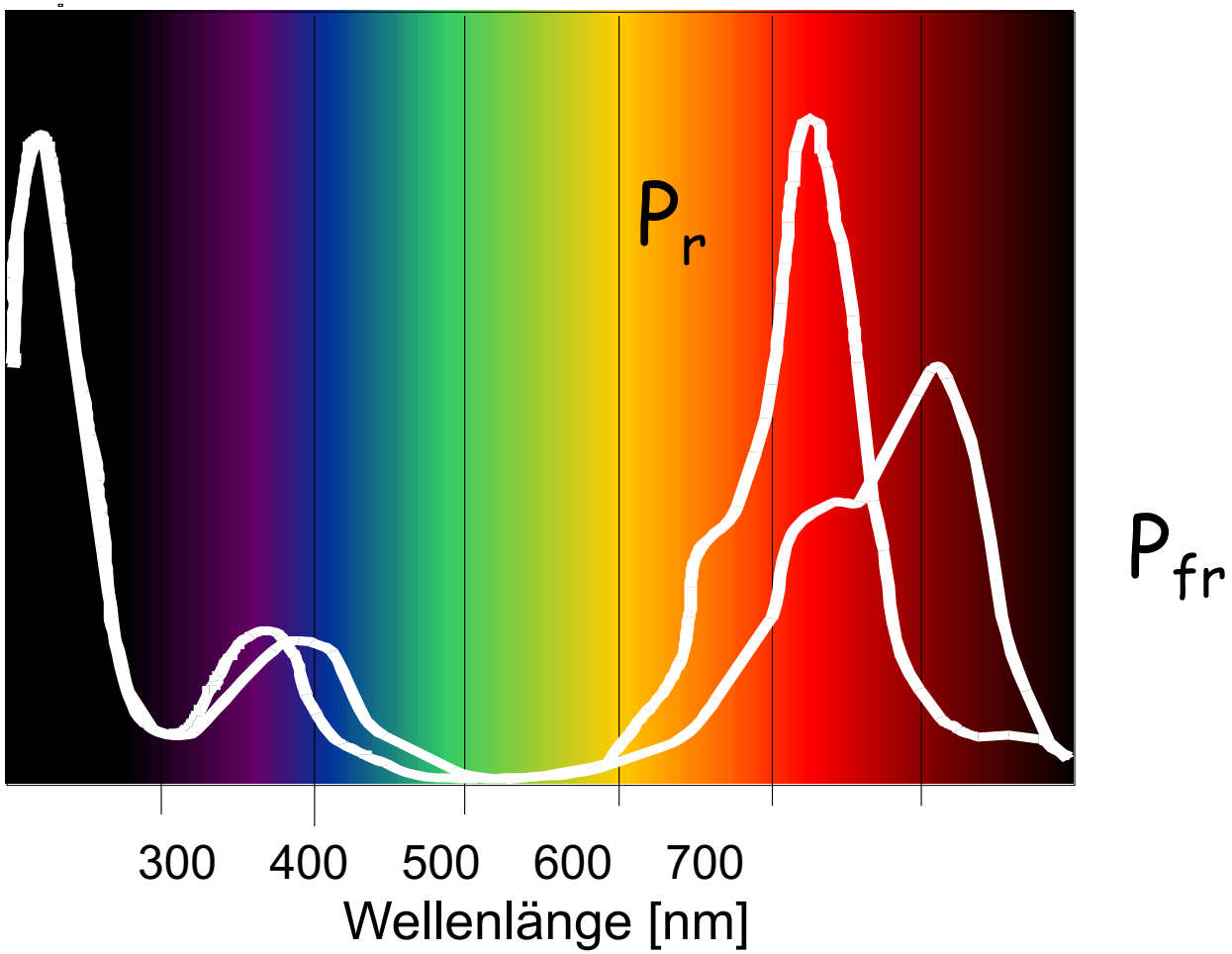
Flint 1936

Borthwick, Hendricks 1950

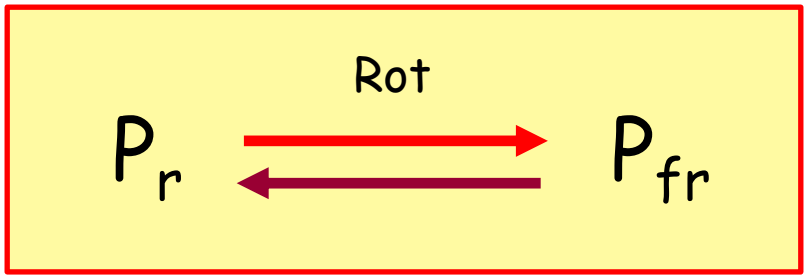
Zwei Zustandsformen von Phytochrom

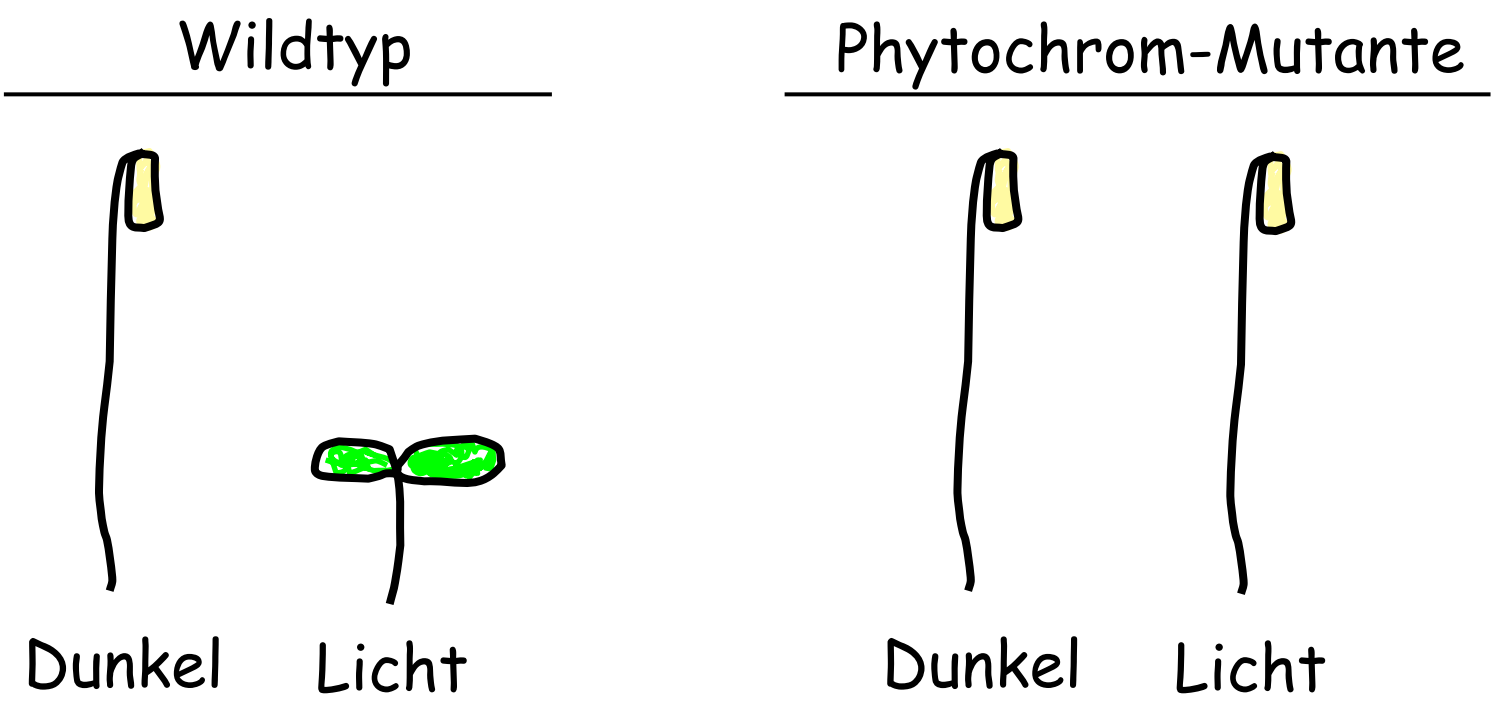


Absorptionsspektrum von Phytochrom



Das reversible Phytochromsystem

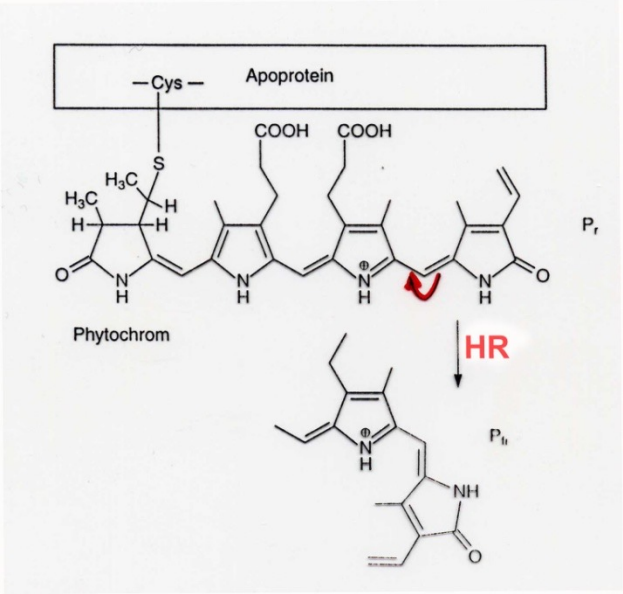




Struktur von Phytochrom (Phy)

- Etiolierte Hafer- oder Reiskeimlinge ⇒ reiche Quelle
- Phy $_{(etioliert)}$: Phy $_{(grün)}$ = 50 : 1
- Gesamtanteil eher niedrig (0,2 % vom Gesamtprotein)

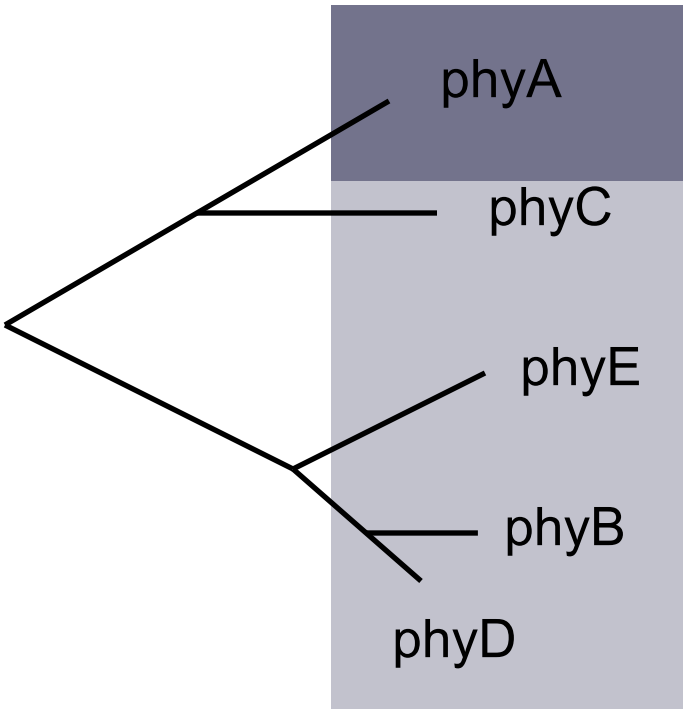
- Lösliches Protein (250 kDa)
- Homodimer aus jeweils Apo-protein und Chromophor
- ‚Assembly' ist autokatalytisch



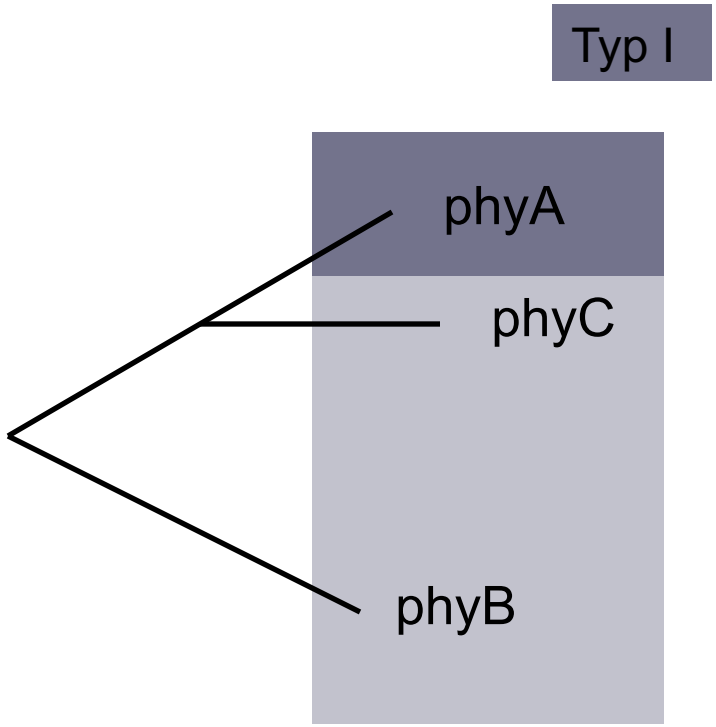
- 2 Typen von Phytochrom

Phytochrom Multigen-Familie

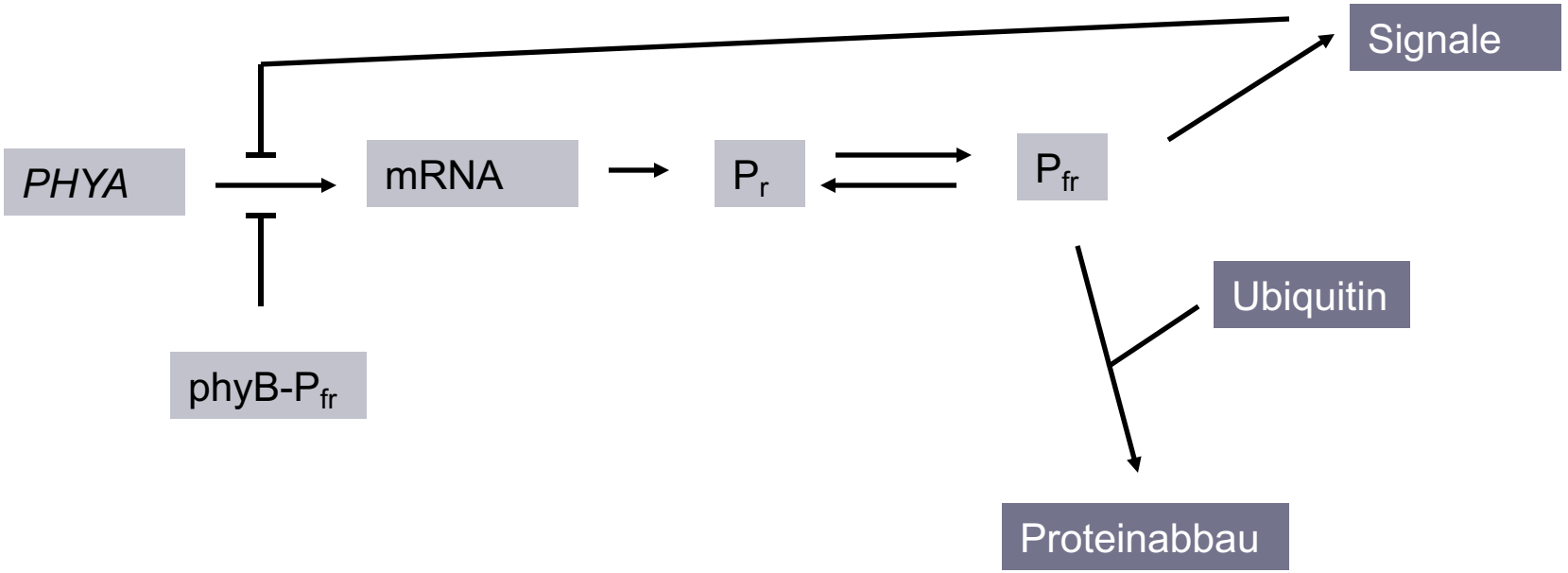
Dikotyle



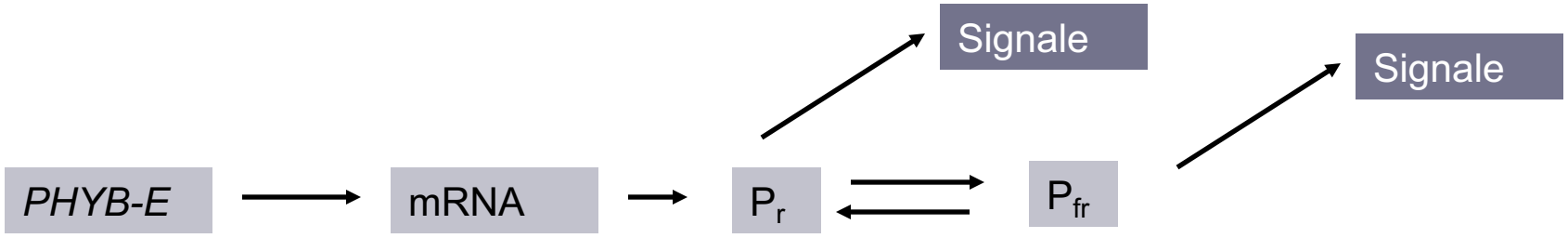
Monokotyle



Typ I - Phytochrom



Typ II - Phytochrom



Phytochrom-induzierte Antworten

Schnelle Antworten (Minutenbereich)

- Chloroplastenrotation
- Schwellen/ Schrumpfen von Zellen
- Rotlichtinhibition des Stängelwachstums (weisser Gänsefuss)

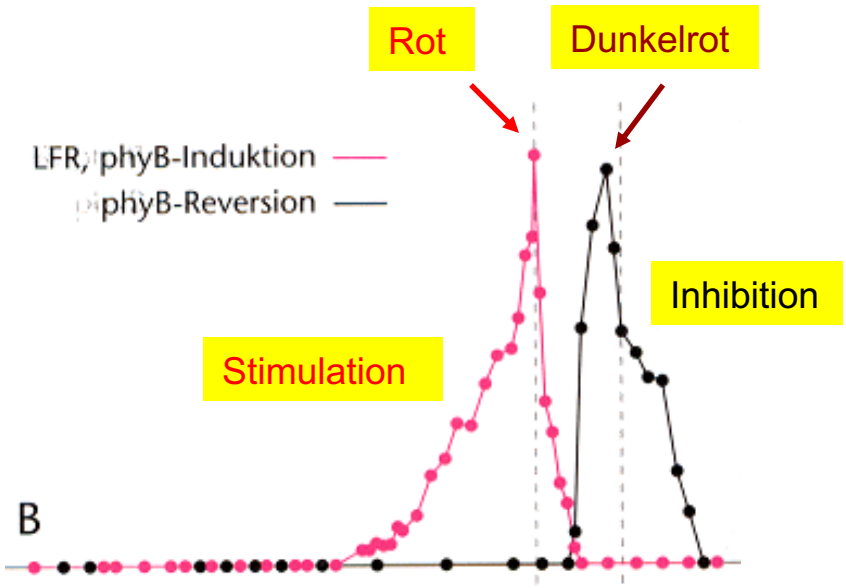
Langsame Antworten (Tage/ Wochen)

- z. B. Blühinduktion
- Samenkeimung

Abhängigkeit der Antworten von der Fluenz I

LFR (low fluence response)

- Klassische Phytochromantwort
- Photoreversibilität
- Mindestens 1 µmol/ m^2
- Sättigung bei 1000 µmol/ m^2
- Gesetz der Reziprozität



⇒ z. B. Samenkeimung, De-Etiolierung, Inhibition des Hypokotylwachstums

Abhängigkeit der Antworten von der Fluenz II

VLFR (very low fluence response)

- z. B. Samenkeimung in Arabidopsis
- Keine Photoreversibilität
- 0,1 nmol/ m^2
- Sättigung bei 50 nmol/ m^2
- Gesetz der Reziprozität

phyA-Mutante

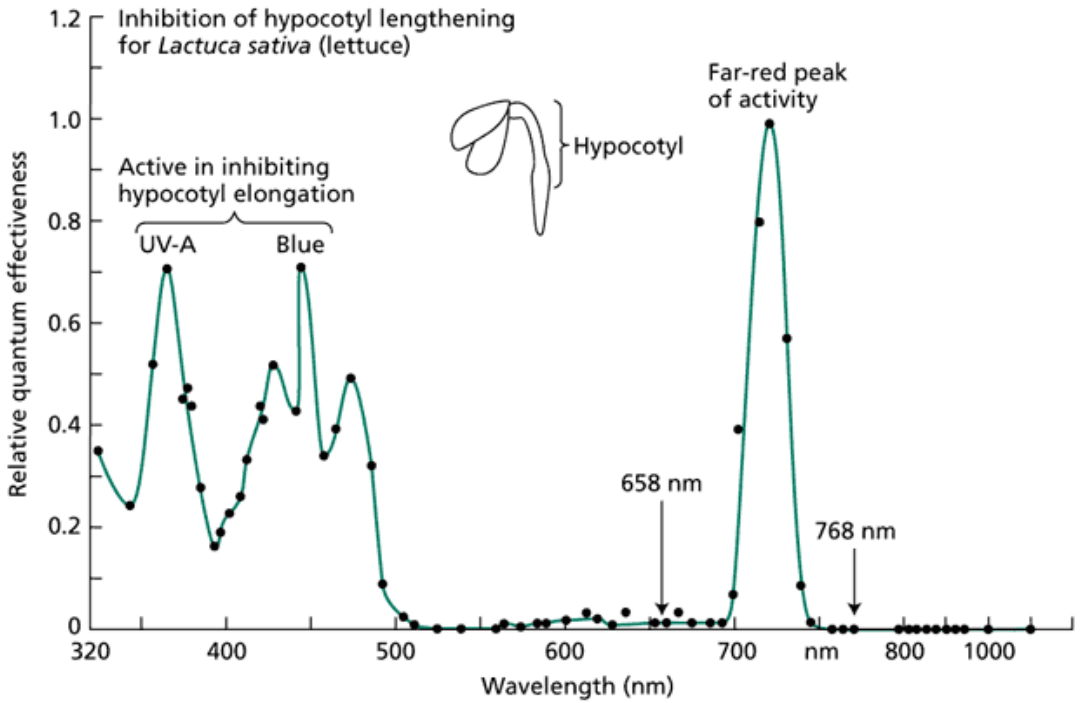
⇒ keine Keimung bei Rotlicht niedrigster Fluenz

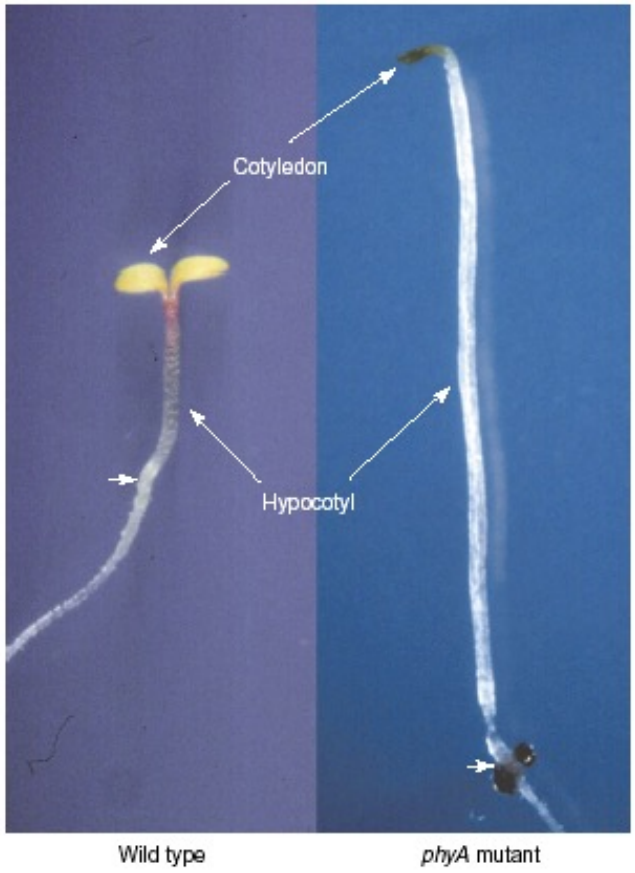
Abhängigkeit der Antworten von der Fluenz III

HIR (high irradiance response)

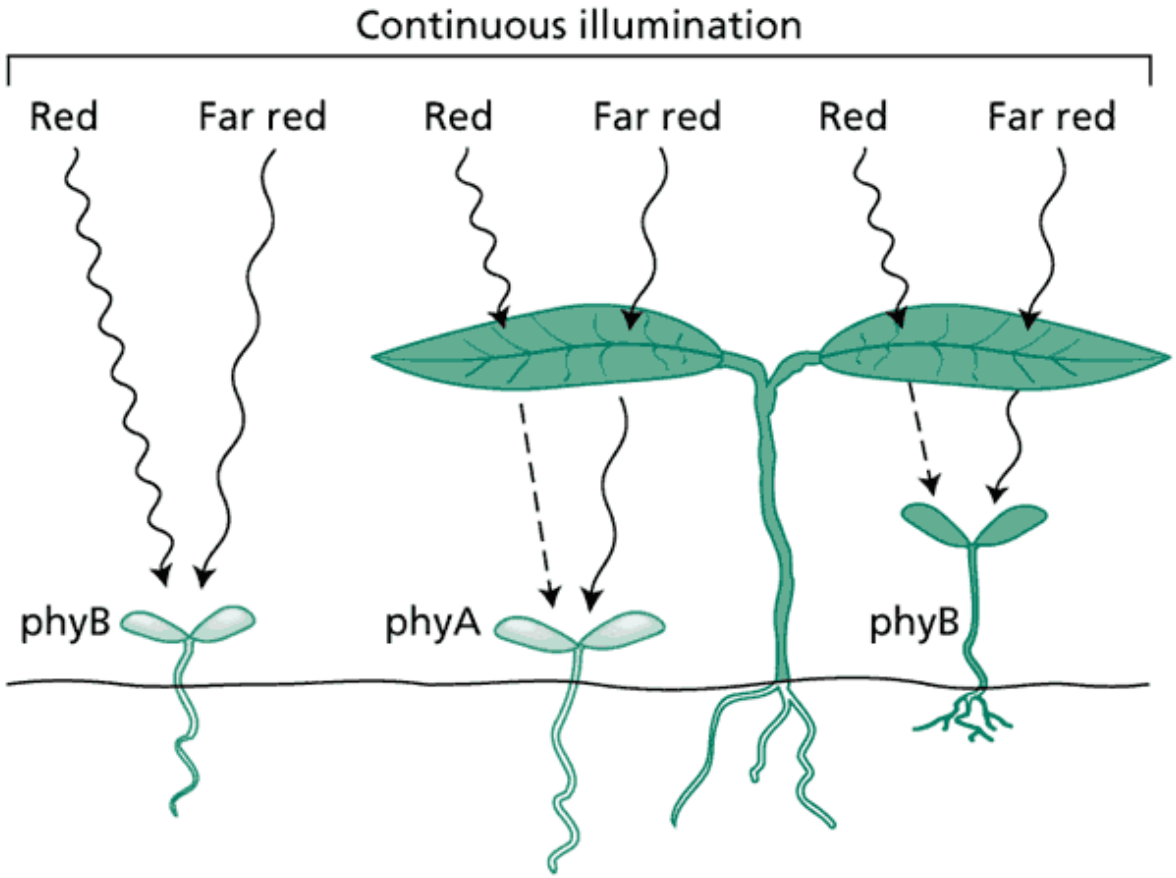
- Keine Photoreversibilität
- Hohe Photonen Fluenzraten und lange Bestrahlungsdauer (proportional zur „Helligkeit)
- z. B. Anthocyan-Synthese, Inhibition des Hypokotyl-wachstums, Öffnung des Apikalhakens

Abhängigkeit der Antworten von der Fluenz III





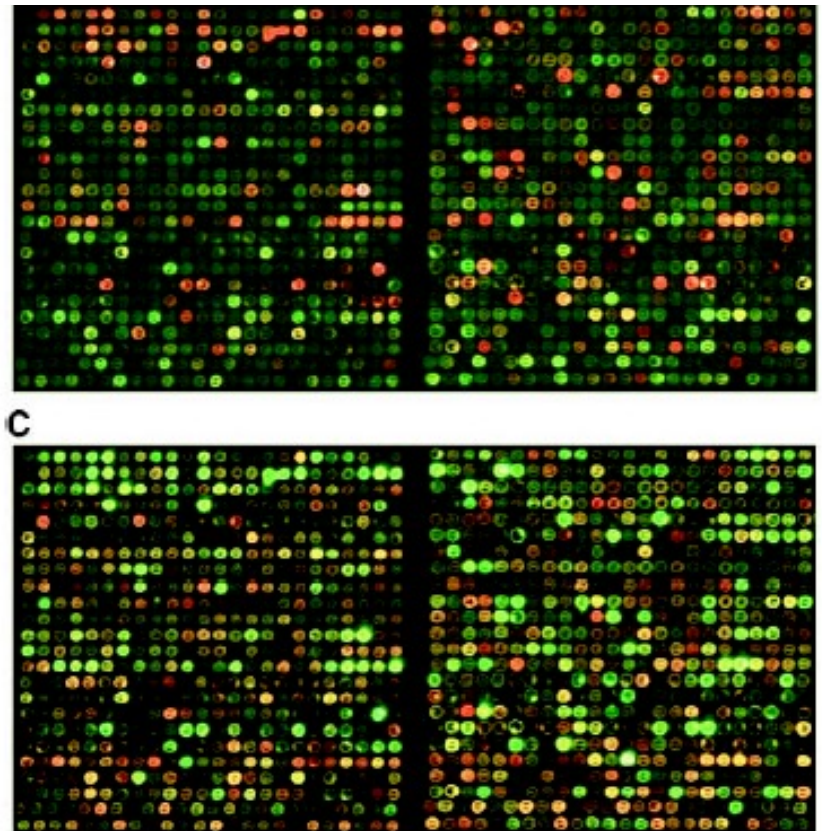
Phytochrom-Interaktionen



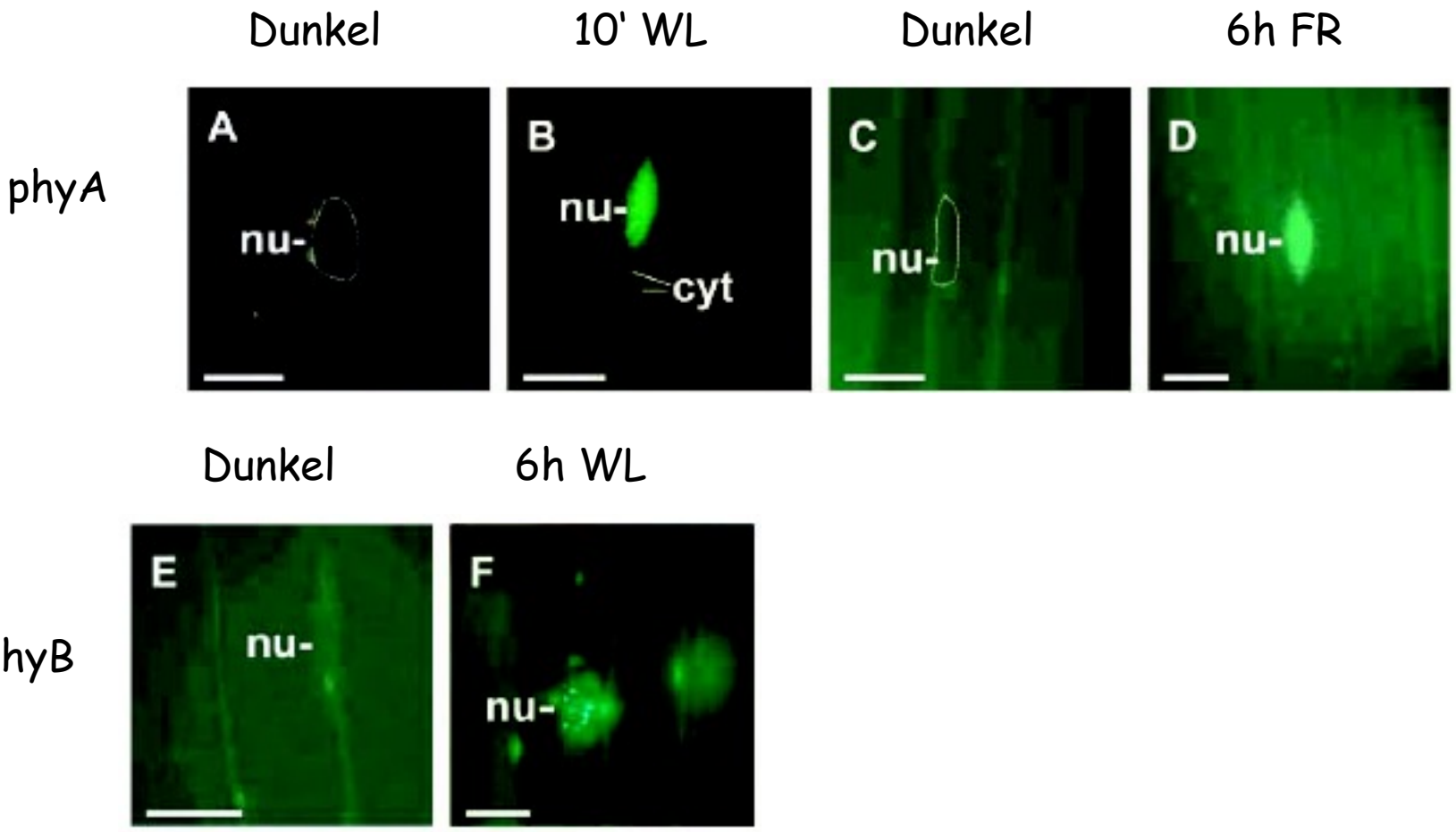
Lichtgesteuerte Genexpression I

- Ansatz: Gleichzeitige Untersuchung vieler Gene

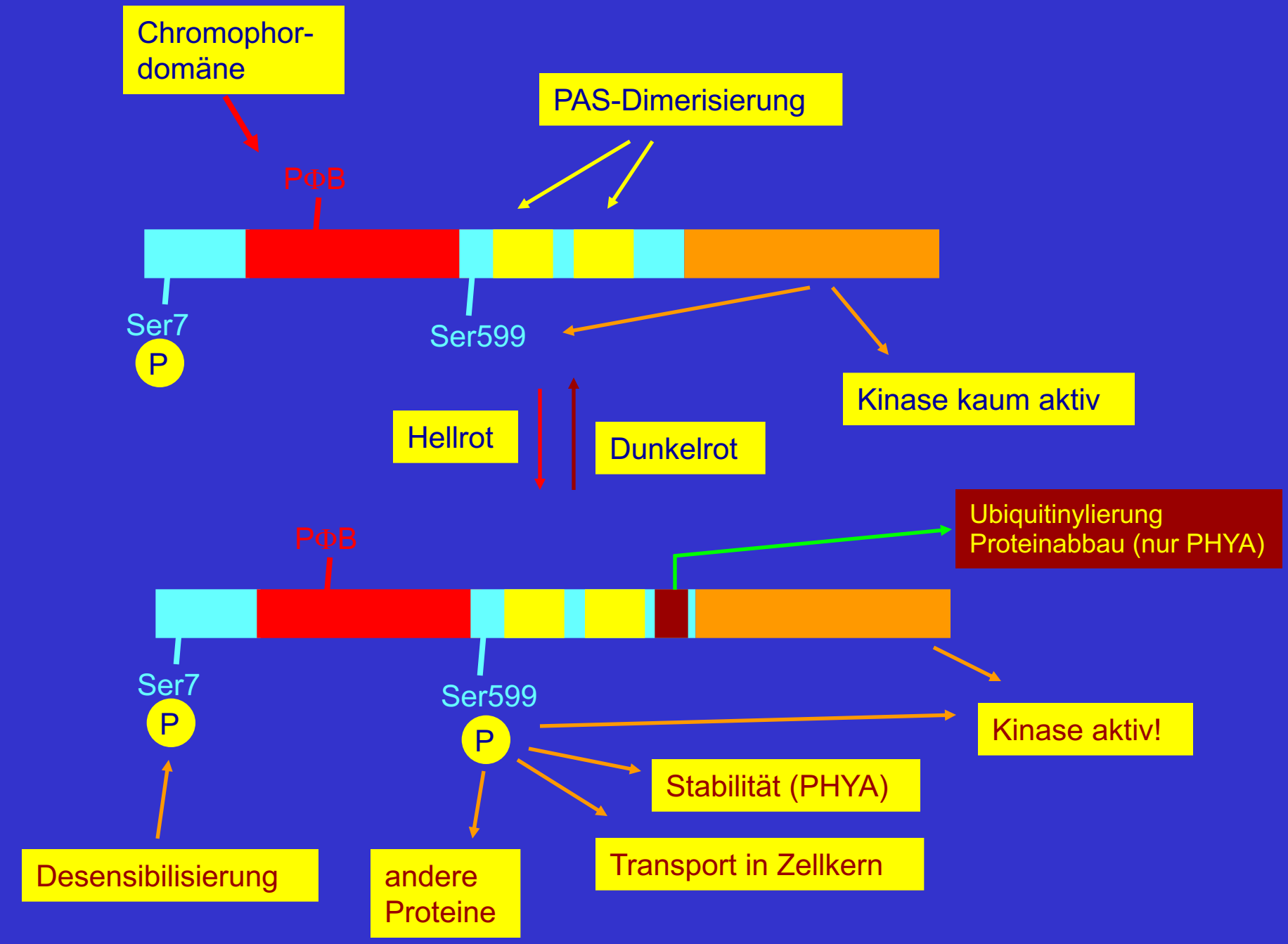
$\Rightarrow$ DNA-Chip, Microarray



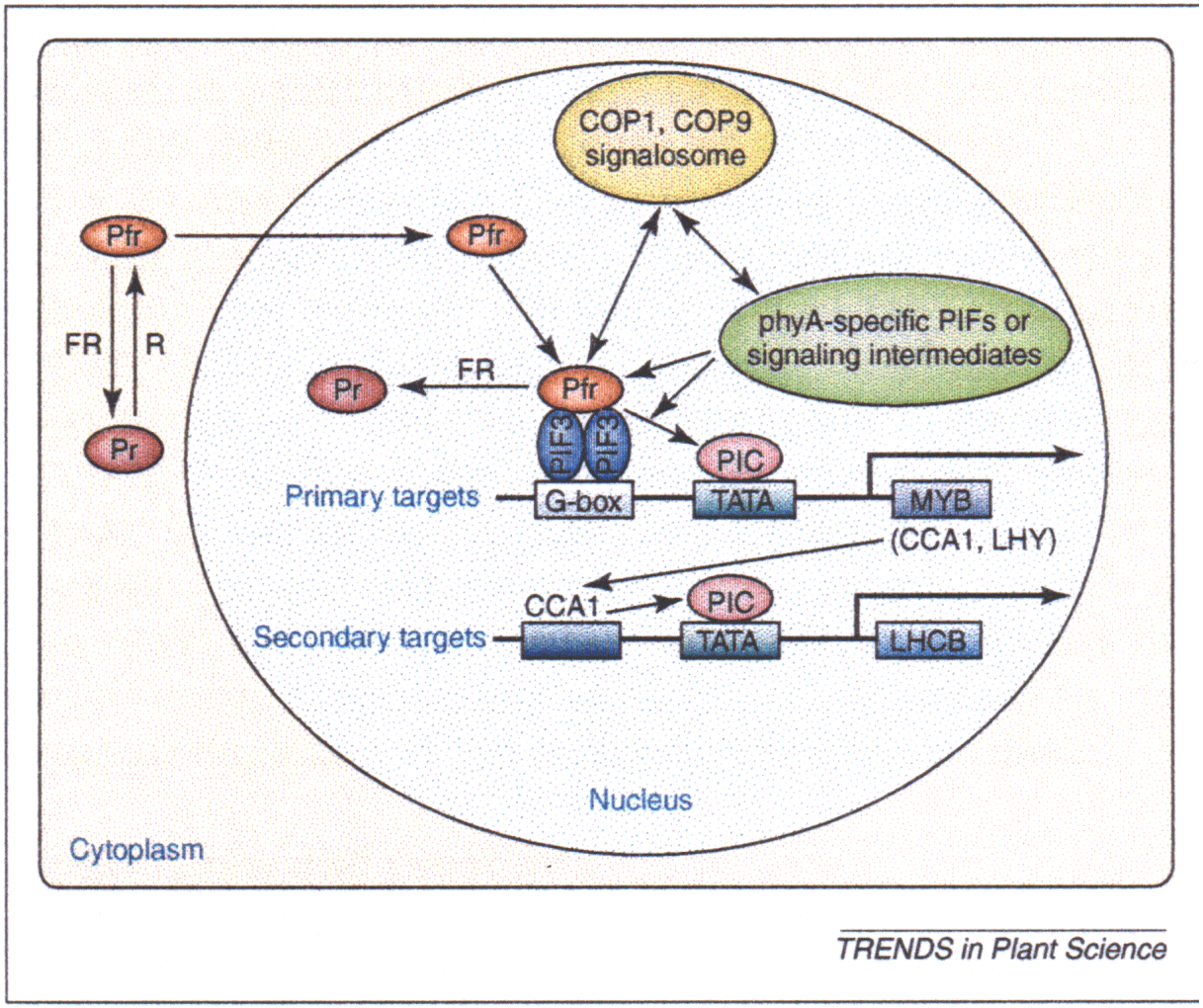
Wie kontrolliert phyA Genexpression ?



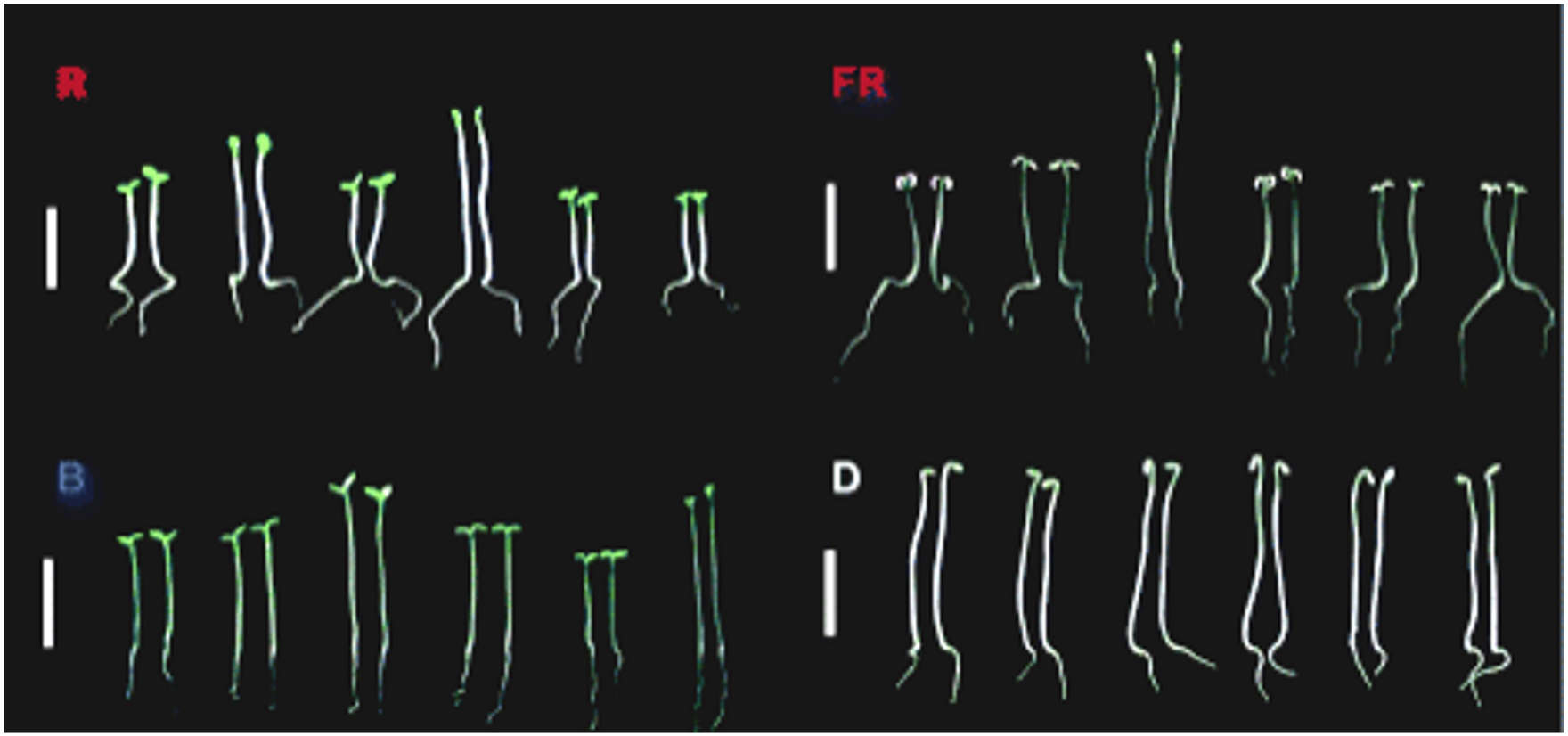
Phytochrome werden lichtabhängig in den Kern transportiert


Chromophor-
domäne
PAS-Dimerisierung
PΦB
Ser7
P
Ser599
Kinase kaum aktiv
Hellrot
Dunkelrot
PΦB
Ubiquitinylierung
Proteinabbau (nur PHYA)
Ser7
P
Ser599
P
Kinase aktiv!
Stabilität (PHYA)
Transport in Zellkern
Desensibilisierung
andere
Proteine

Modell der Phytochrom/ PIF3 Signaltranduktion



Identifizierung von Signalkomponenten



Col *cog1-D* *phyA* *phyB* Ler *hy4*

Col *cog1-D* *phyA* *phyB* Ler *hy4*

Identifizierung von Signalkomponenten

- Geeignetes ‚Screening' von z. B. T-DNA Insertionslinien

hy-Mutanten: Lichtantwort ist beeinträchtigt

⇒ langes Hypokotyl im Licht (z.B. *phy*-Mutanten)

cop-Mutanten: , constitute photomorphogenesis '

det-Mutanten: , de-etiolated '

⇒ kurz im Dunkeln (vgl. WT im Licht)

aber: fehlendes Chlorophyll

laf-Mutanten: , long after far-red light , (vgl. *phyA*-Mutante)

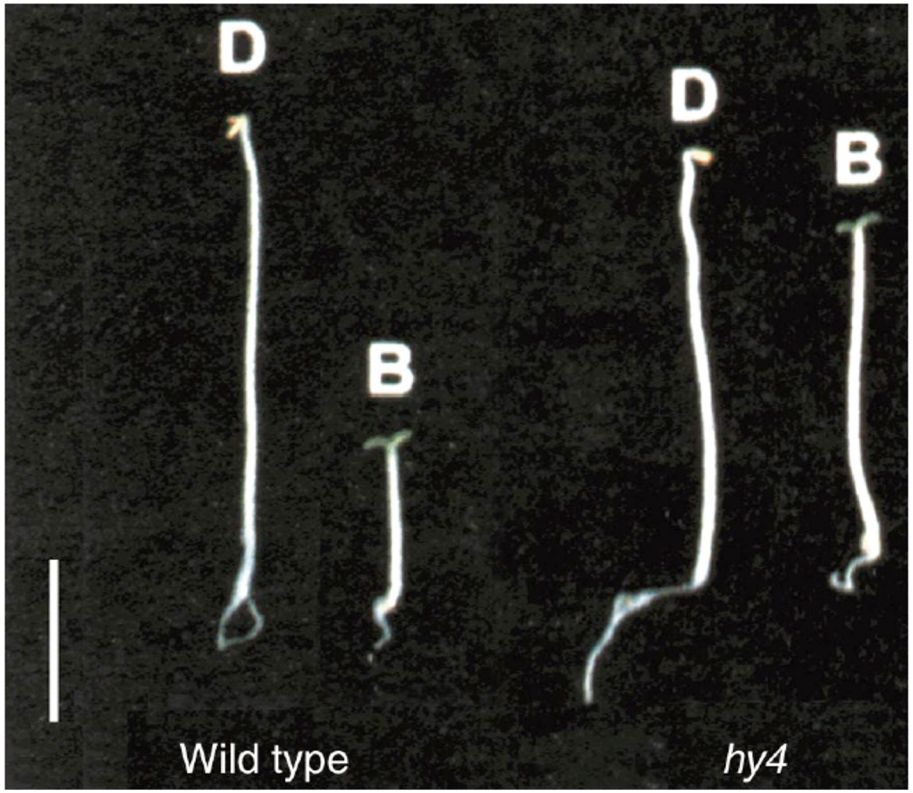
320 nm

500 nm

Blaulichtrezeption

Inhibition des Hypokotylwachstums

Die Suche nach dem Cryptochrom

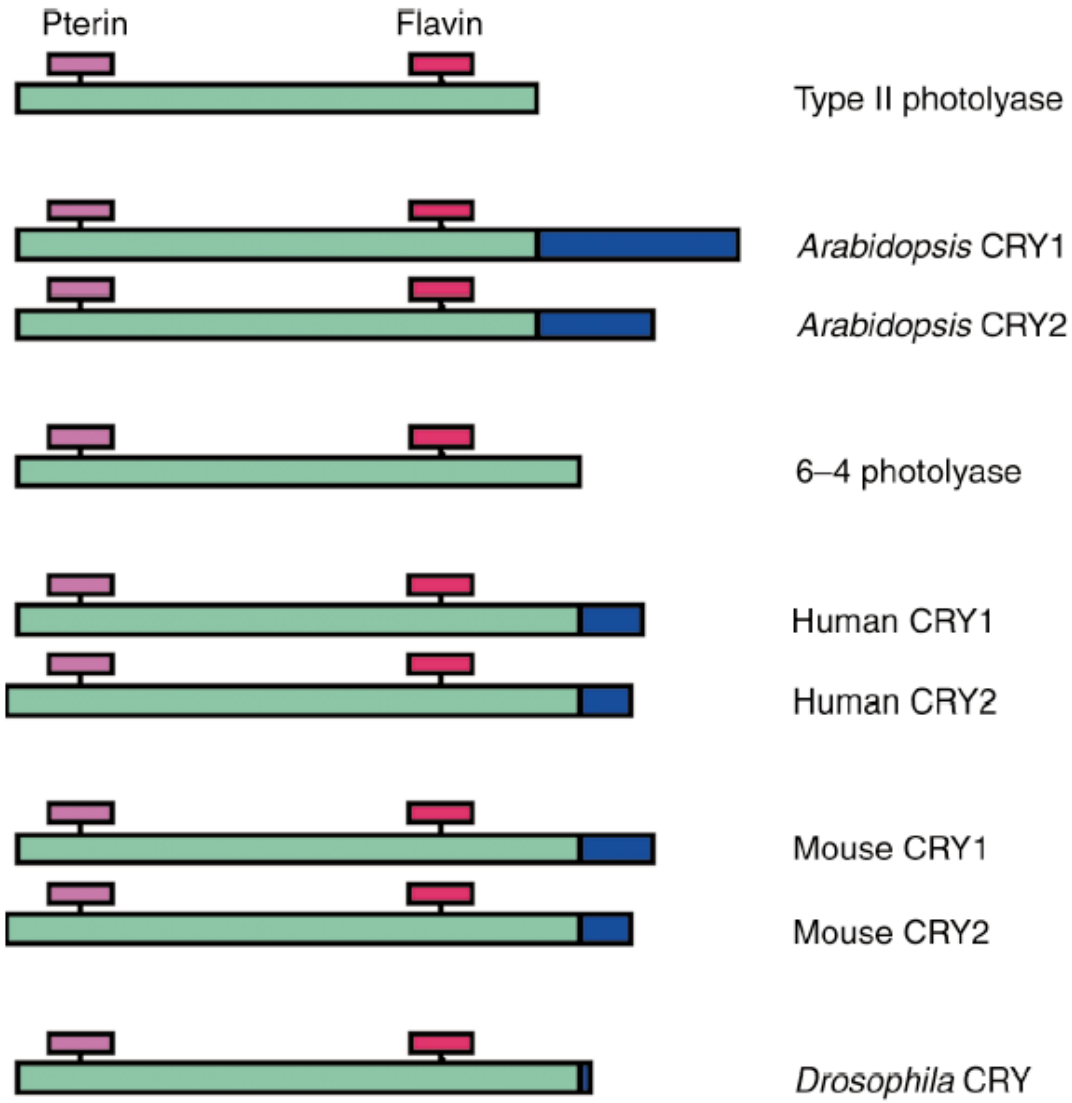


hy4 oder *cry1*

T-DNA tagged
⇒ Isolierung des Gens
⇒ Sequenzierung

CRY1
Homologie zu DNA-Photolyasen
Bindestellen für Flavin, Pterin

Struktur der Cryptochrome



CRY1-Phänotypen

cry1-Mutante → Blaulicht **insensitiv**

CRY1-Überexpression → Blaulicht **hypersensitiv**

CRY1-Expression in Tabak → Blaulicht **hypersensitiv**

CRY1-antisense-RNA in Tomate → Blaulicht **insensitiv**

⇒ Signaltransduktion in verschiedenen Spezies konserviert

Weitere *CRY*-Gene in *Arabidopsis* ?

Hybridisierung einer *Arabidopsis*-Genbank ⇒ CRY2

cry2-Mutante → Blaulicht **insensitiv**

CRY2-Überexpression → Blaulicht **hypersensitiv**

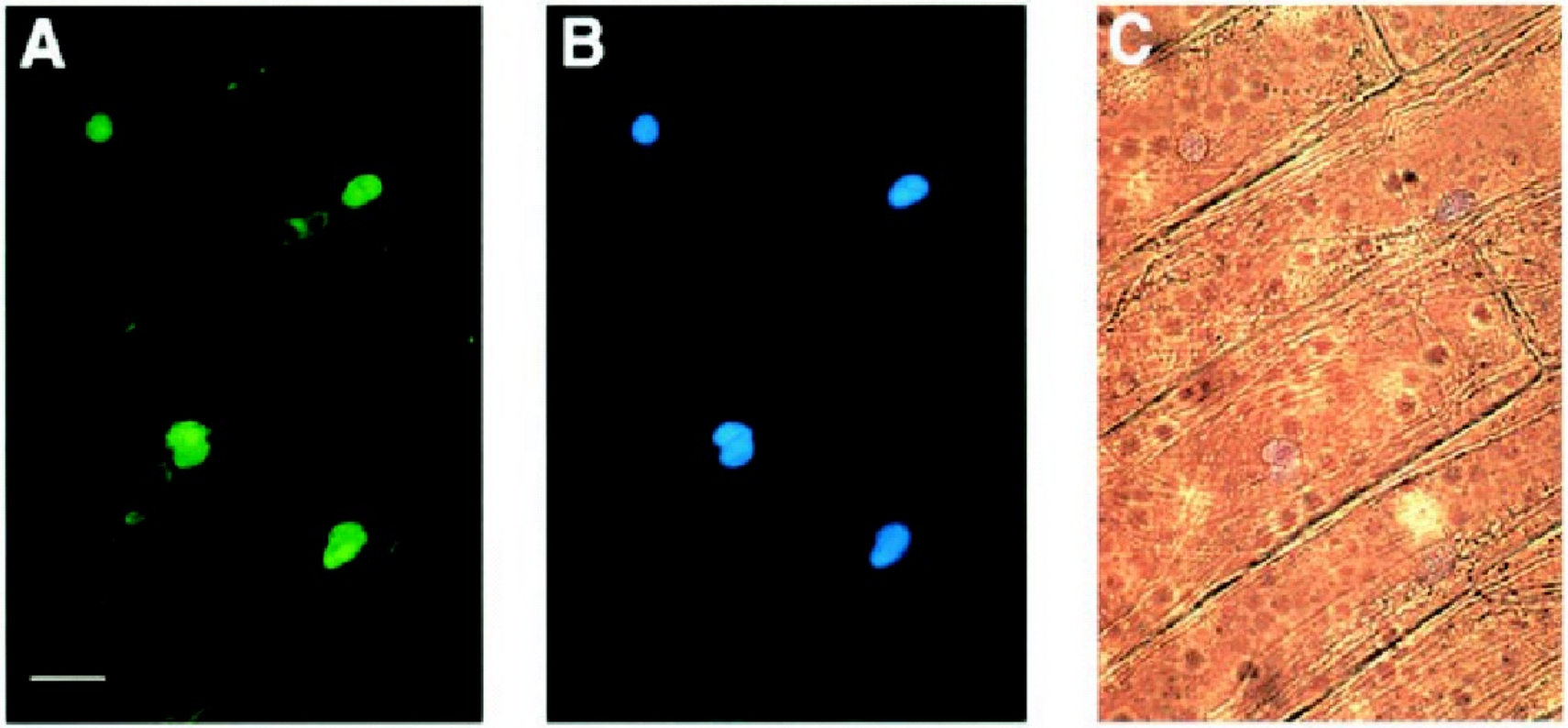
Befund: CRY2-Expression sinkt bei **Blaulicht**bestrahlung
(CRY1 ist konstitutiv !)

mRNA?	bleibt konstant
Proteinmenge?	vermindert ⇒ Regulation durch Proteinabbau

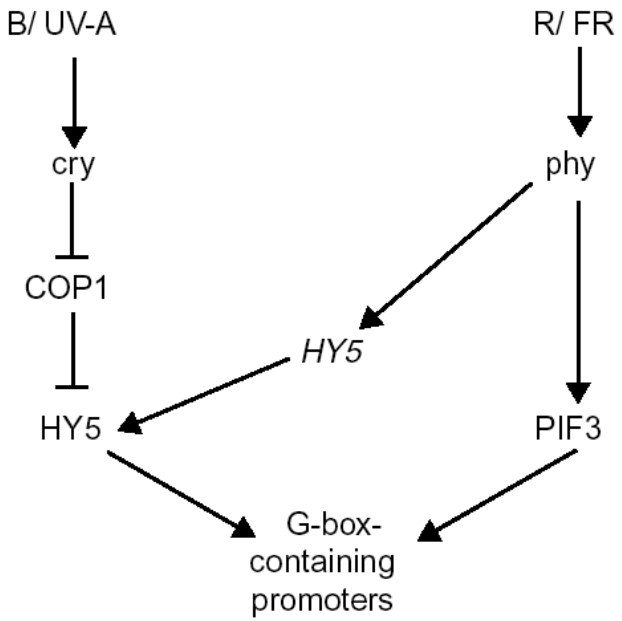
cry1/cry2-Doppelmutante mit stärkerem Phänotyp als die Einzelmutanten
⇒ REDUNDANZ der Cryptochrome

CRY1 ist im Zellkern lokalisiert

35S-CRY1::GFP in Zwiebelepidermiszellen

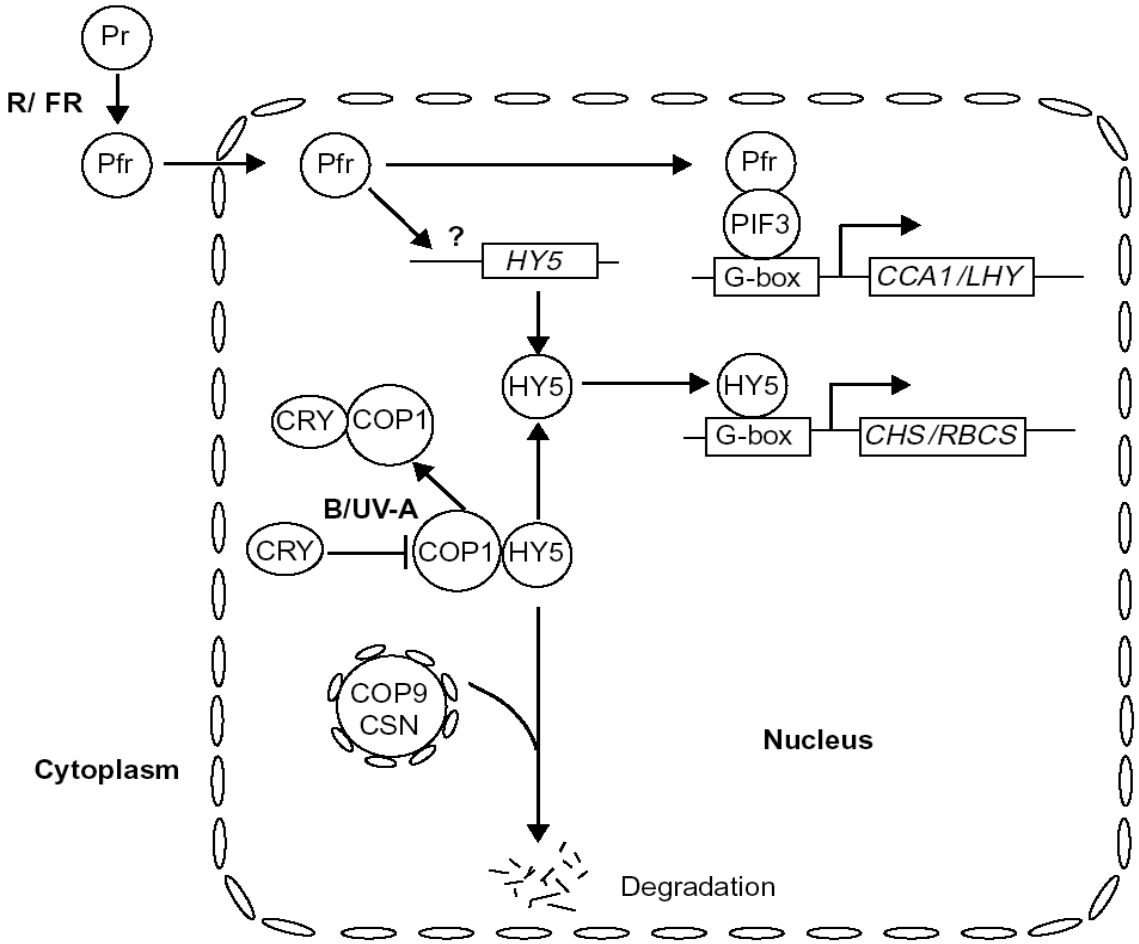


Duale Signalkaskade bei der Photomorphogenese



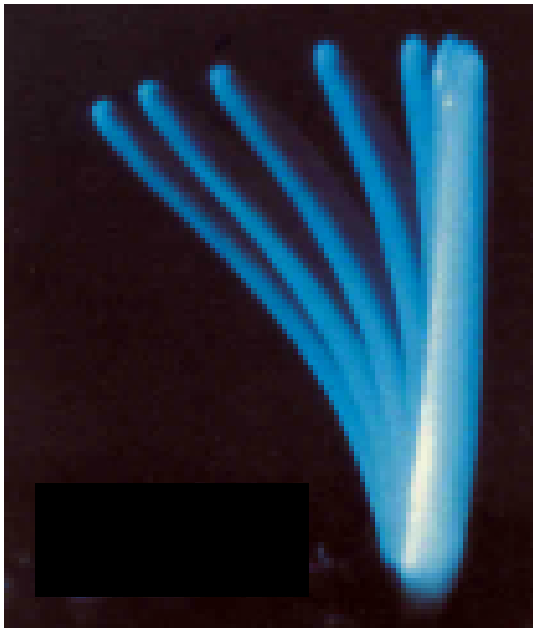
1) Licht aktiviert Cryptochrome und Phytochrome
2) Cryptochrom interagiert mit COP1
3) COP1 wird inaktiviert ⇒ Proteolyse von Hy5 verhindert
4) Phytochrome induzieren die Expression von Hy5
5) Hy5 wird angereichert und steuert die Photomorphogenese

Duale Signalkaskade bei der Photomorphogenese



Phototropismus

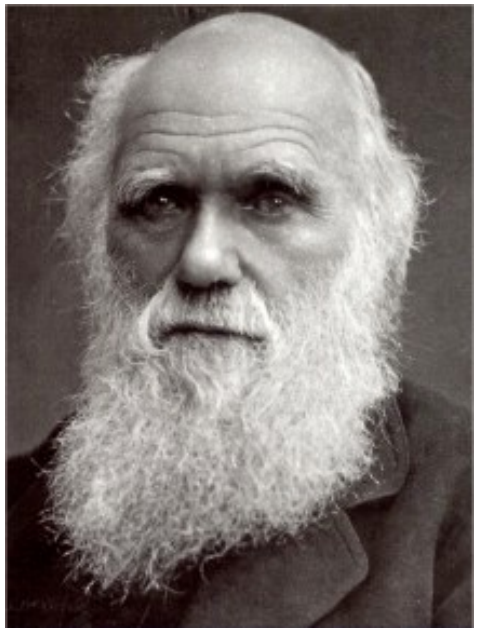
JULIUS v. SACHS (1832-1897)

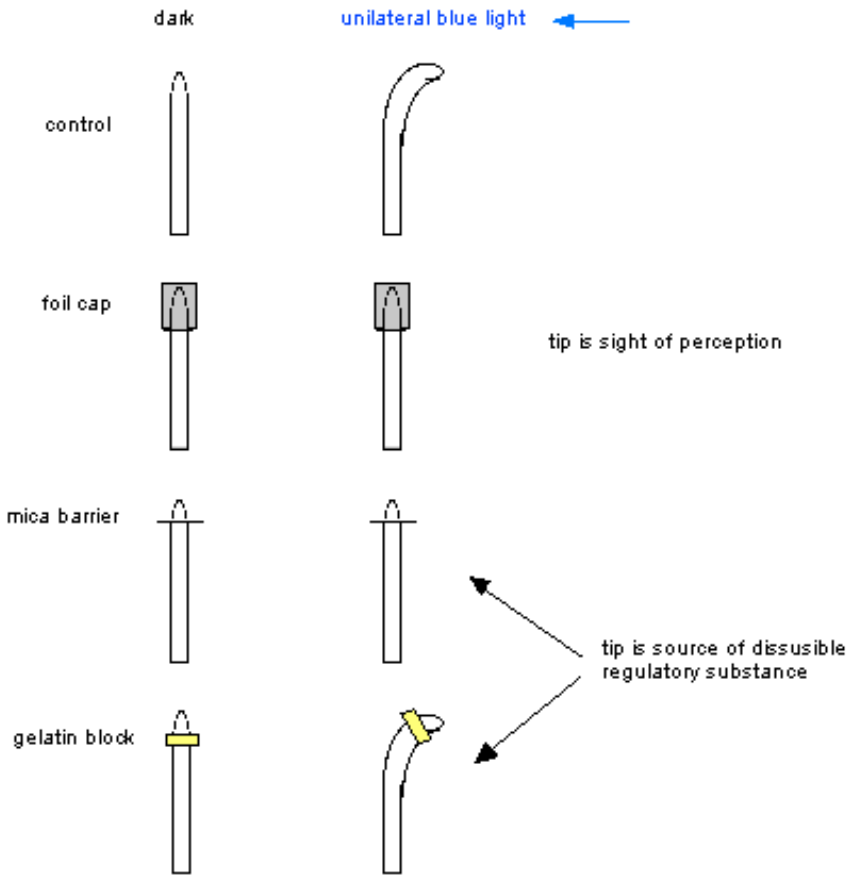


1887: *Lectures on the physiology of plants*, Clarendon, Oxford, UK

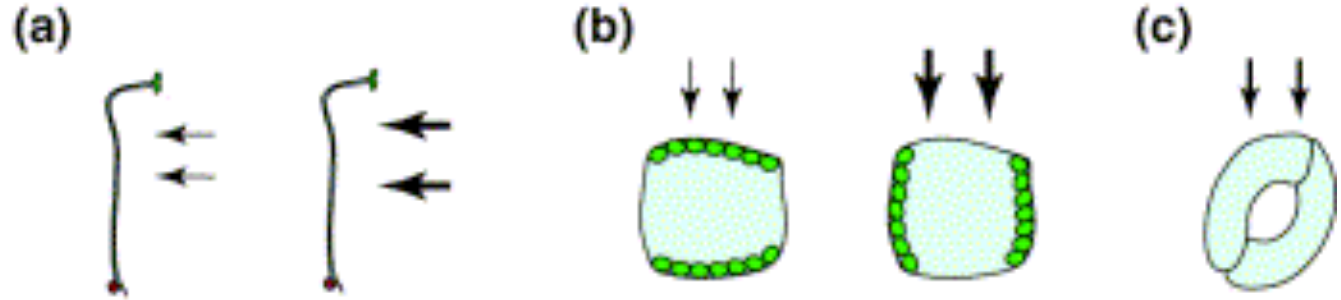
Die Entdeckung des Auxins

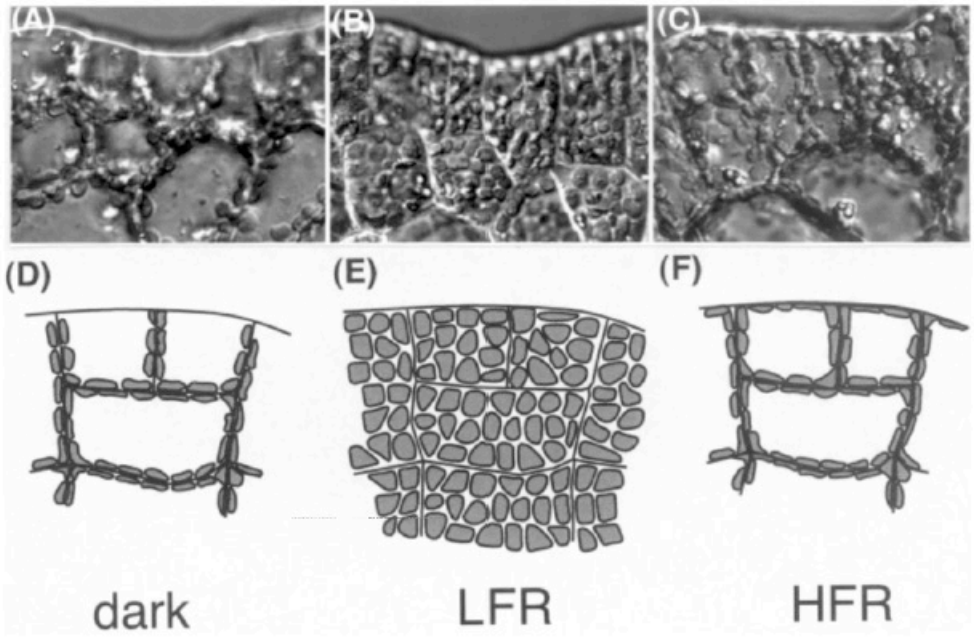
Charles Darwin (1809 -1882)

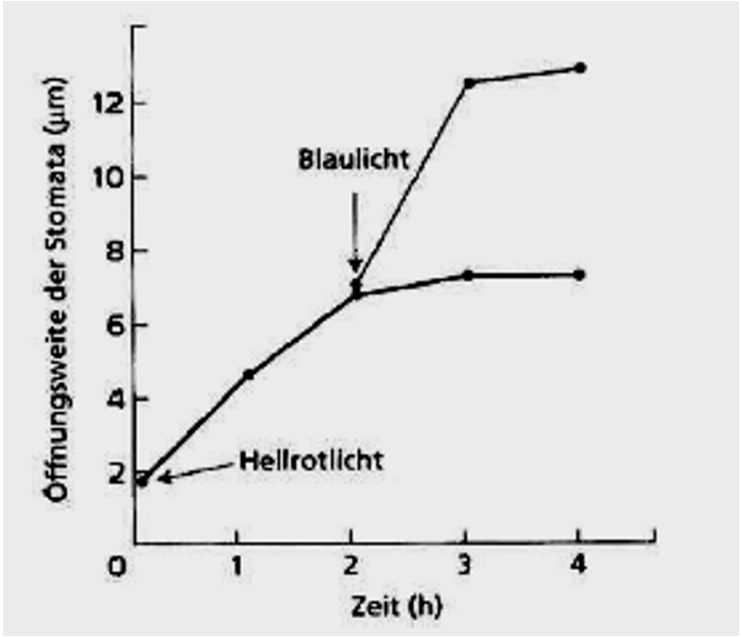




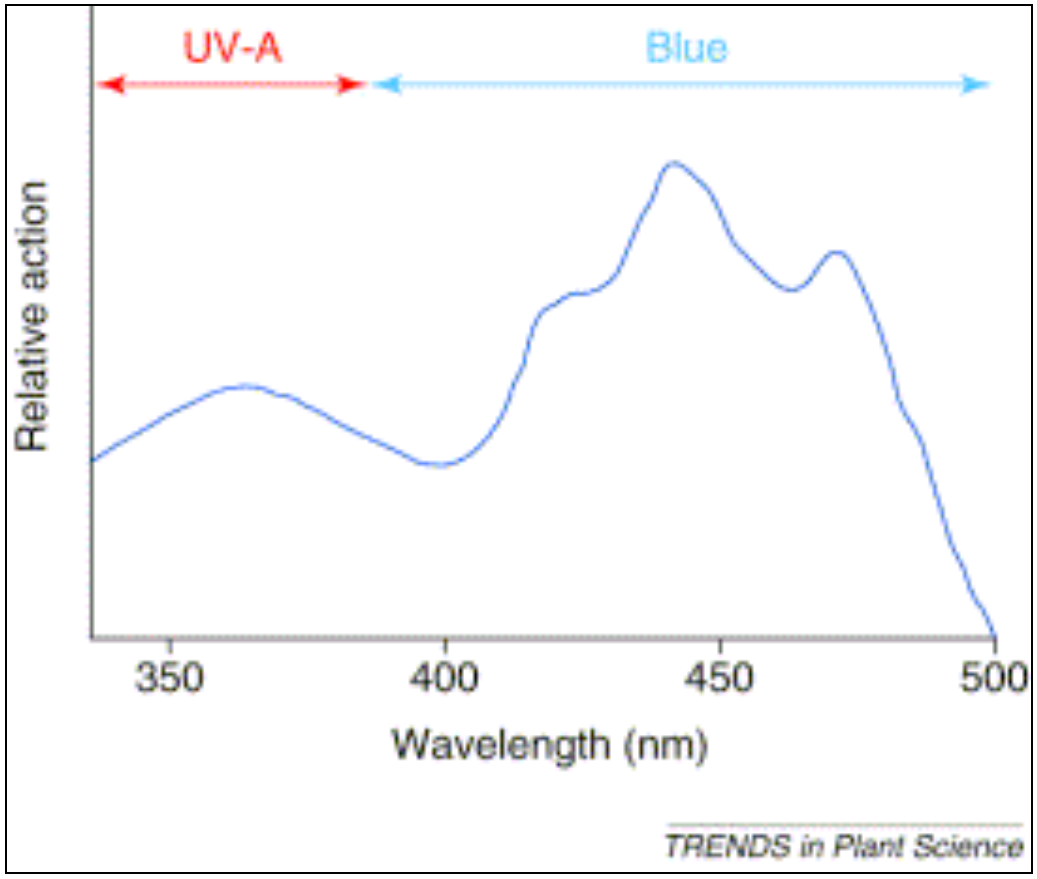
Blaulichtantworten



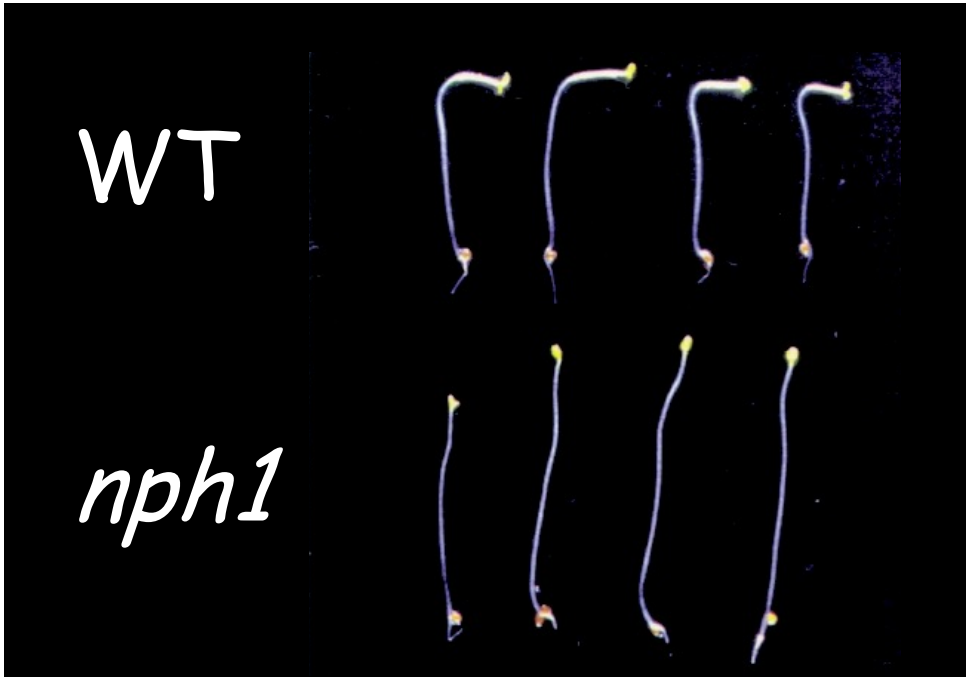




Aktionsspektrum der Blaulichtantwort

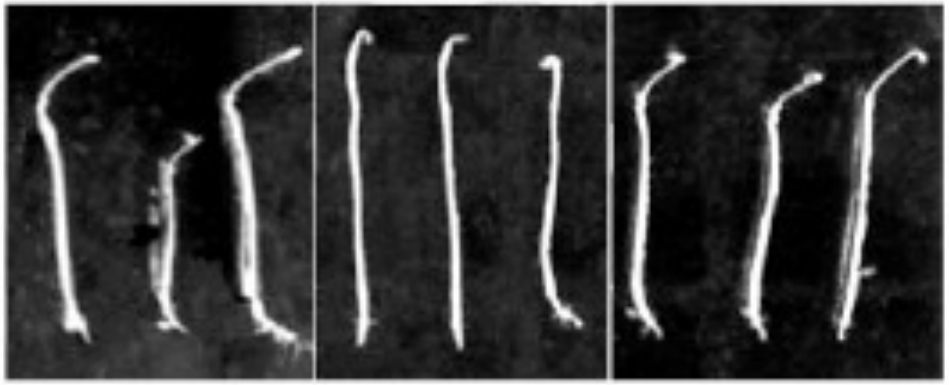


nph1: non-phototrophic hypocotyl 1



BL

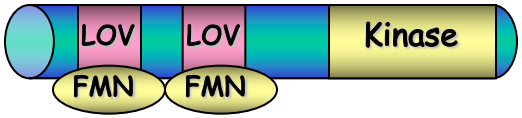
Identifizierung des *NPH1*-Locus



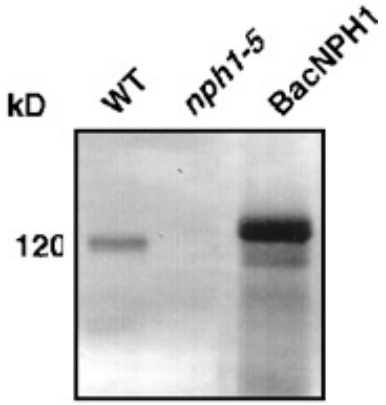
WT | *nph1-5* | *nph1-5/* $NPH1_{genomisch}$

Komplementation der *nph1*-Mutante

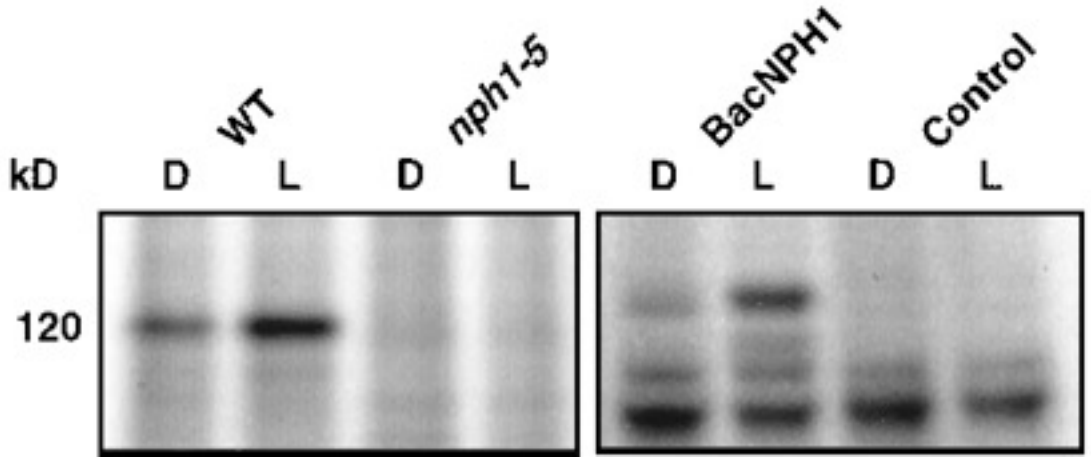
NPH1: 996 AS
2 LOV-Domänen
(light, temperature, voltage)



Autophosphorylierung von NPH1



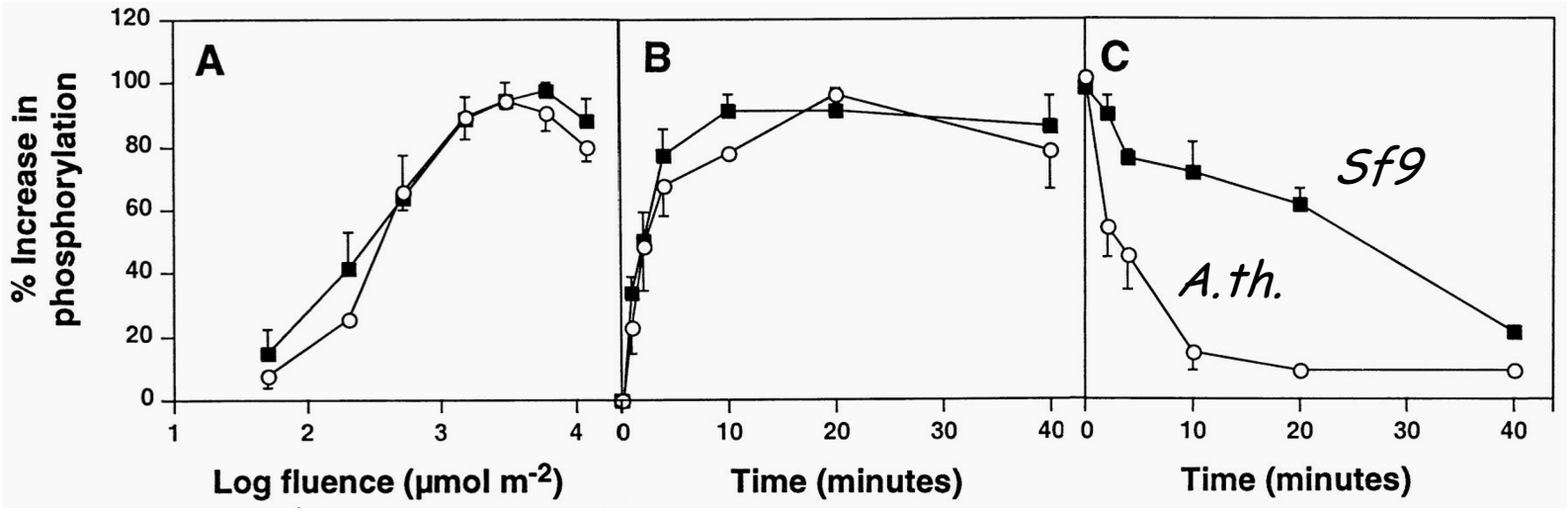
Immunologischer Nachweis von NPH1 *in vivo* und nach Expression in Insektenzellen *Sf9*



Autoradiogramm

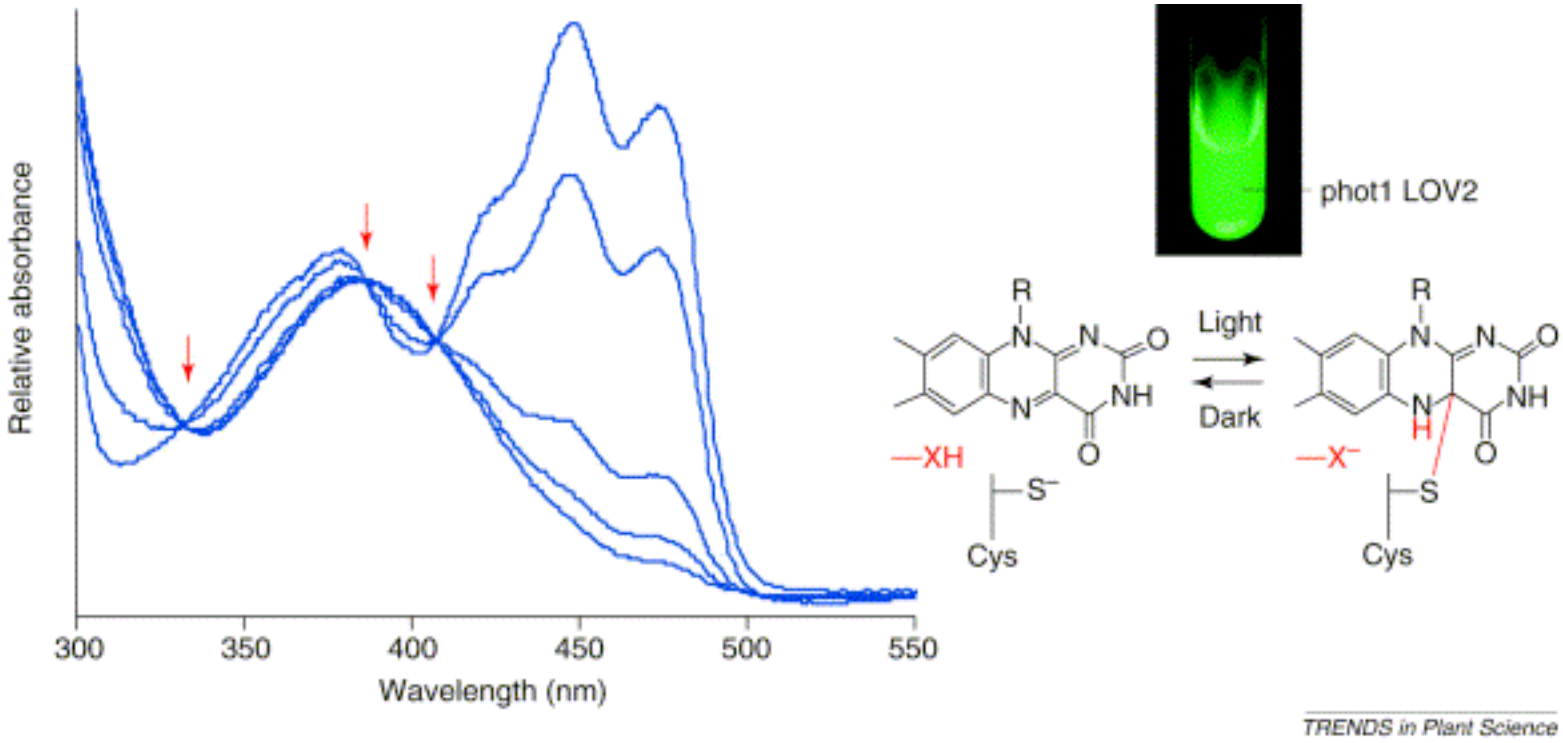
Lichtabhängigkeit der Autophosphorylierung

Licht Dunkel



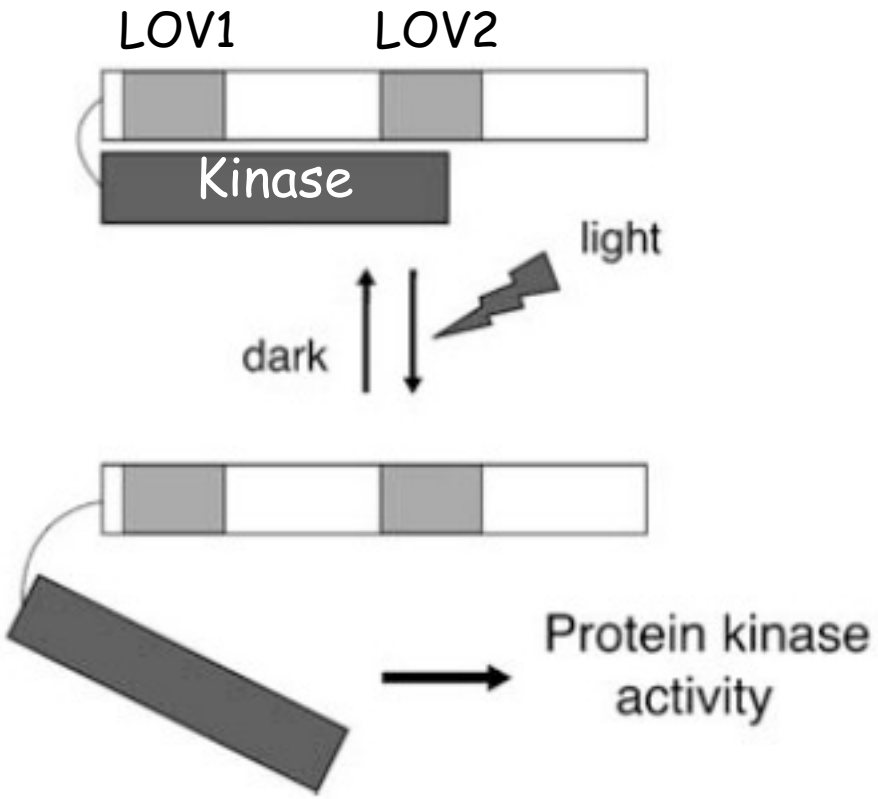
Autophosphorylierung steigt mit der Zeit
und zunehmender Lichtfluenz

Photochemie der LOV-Domänen



- Blaulicht erzeugt ein kovalentes FMN-Cysteinaddukt (schnell, s)
- Dieses reagiert im Dunkeln wieder zurück (langsam, min)
- Die Reaktion benötigt einen bis dato unbekannten Protonen Donor-Akzeptor

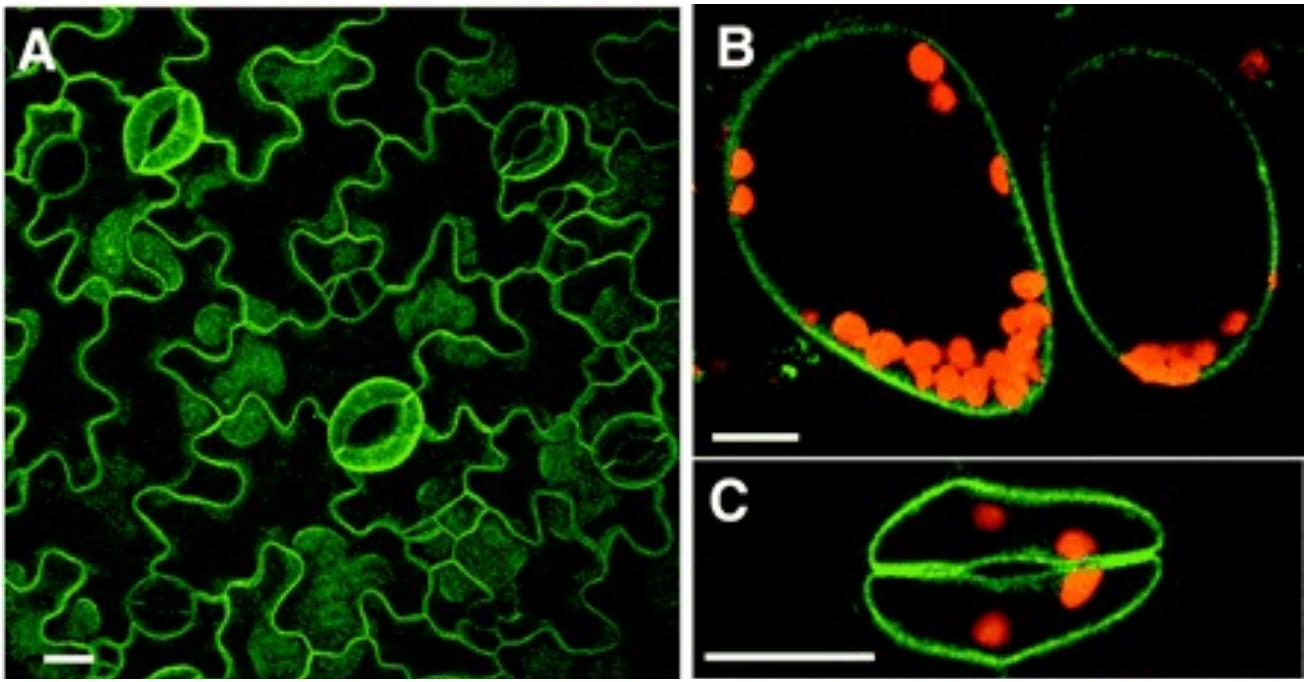
Modell der Lichtaktivierung der Kinaseaktivität



- NMR: ausgeprägte strukturelle Reorganisation
- Freisetzung der Kinaseaktivität

Subzelluläre Lokalisierung

NPH1 befindet sich in der Plasmamembran

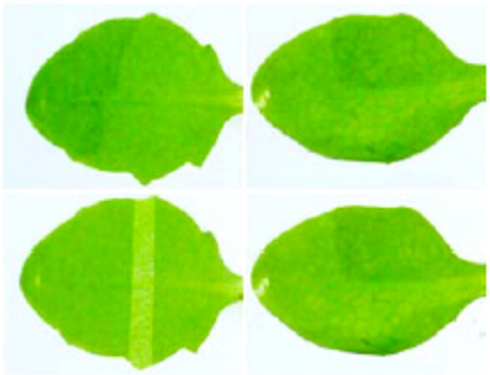


Identifizierung eines zweiten Phototropins

WT *cav1-1*

vorher

nachher

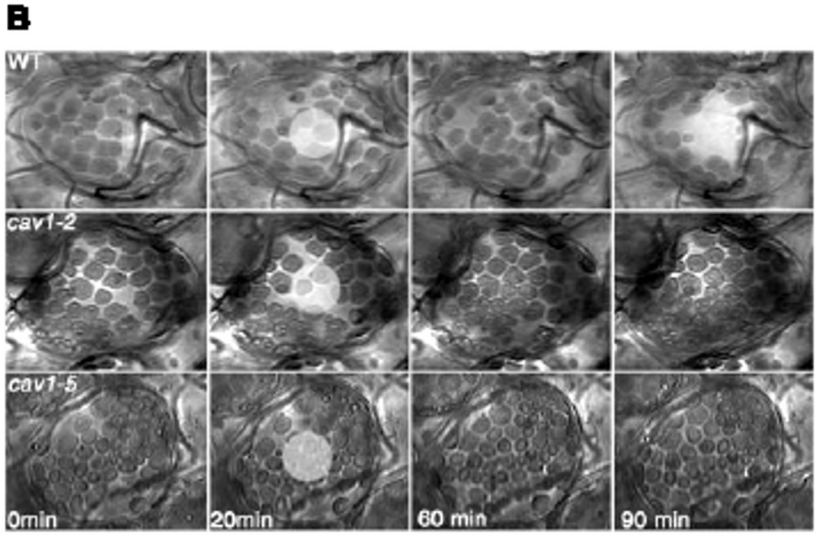


cav-Mutanten
(defective *in chloroplast avoidance movement)*

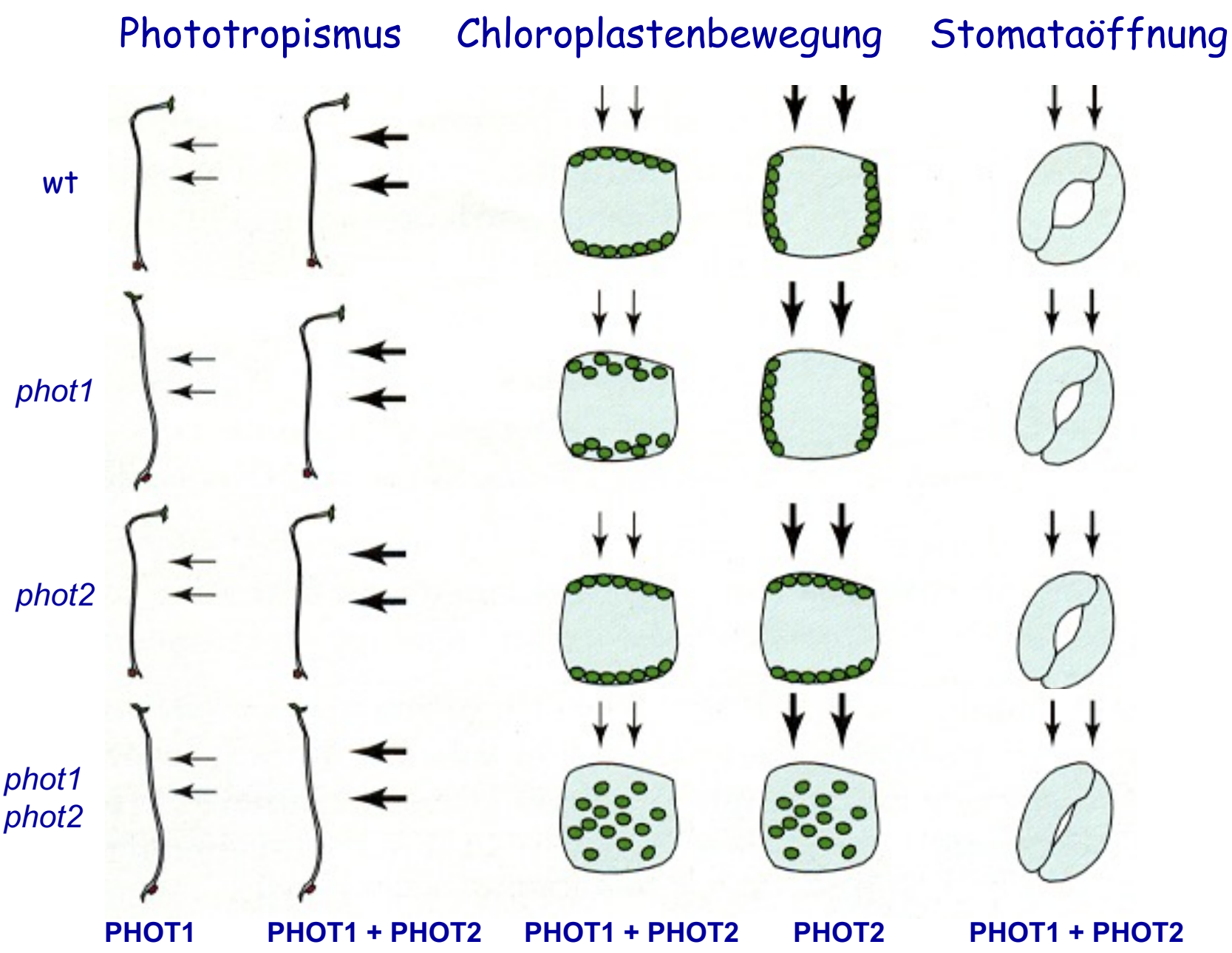
WT

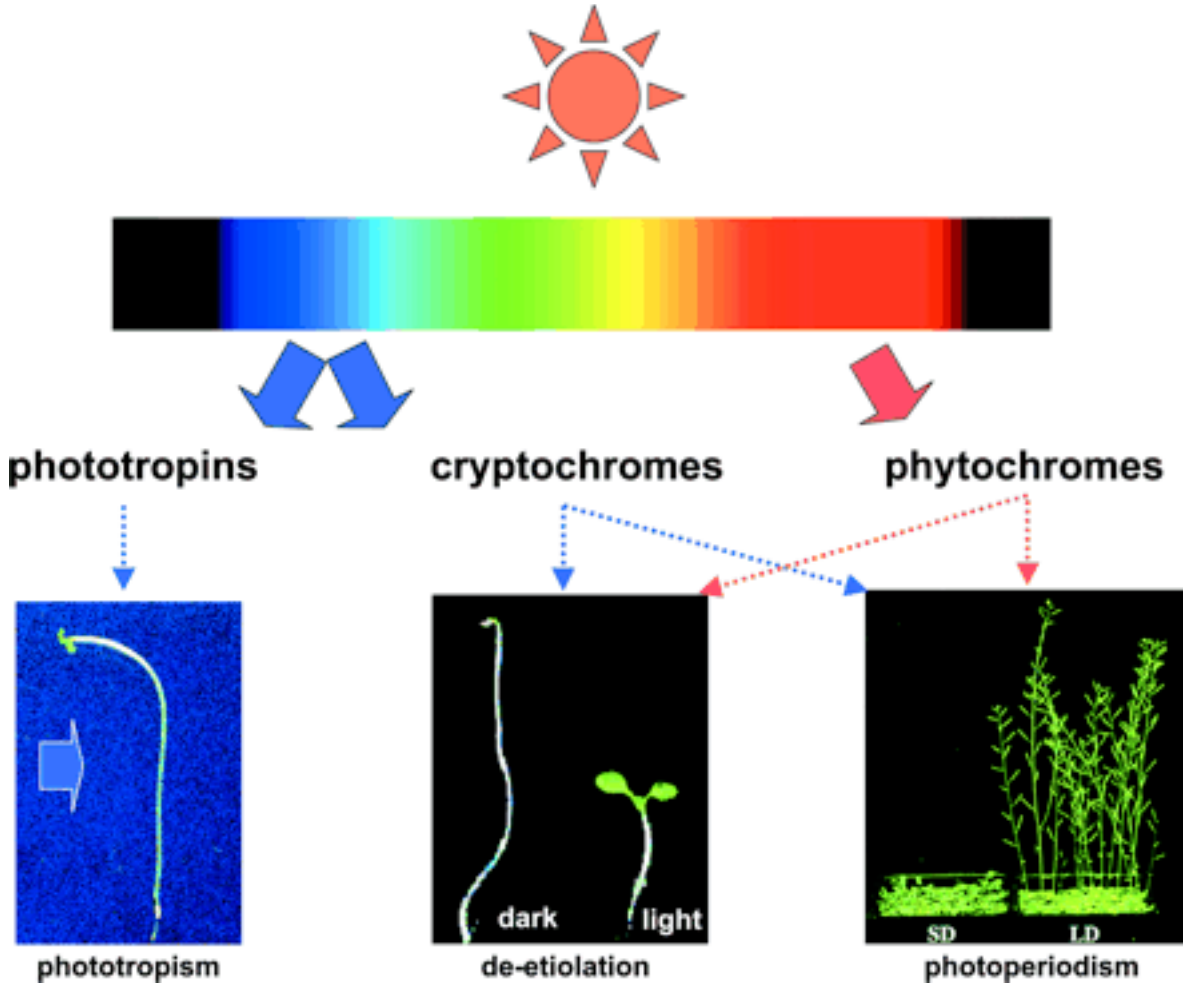
cav1-2

cav1-5



NPL1


Phototropismus
Chloroplastenbewegung
Stomataöffnung
wt
phot1
phot2
phot1
phot2
PHOT1
PHOT1 + PHOT2
PHOT1 + PHOT2
PHOT2
PHOT1 + PHOT2


phototropins
cryptochromes
phytochromes
dark
light
SD
LD
phototropism
de-etiolation
photoperiodism

Einführung in die Pflanzenphysiologie
Das war‘s!